Thesis AMSTERDAM 1911 4784

DE OPSONINENLEER
EN HARE DIAGNOSTISCHE WAARDE BIJ DE TUBERCULOSE

DOOR F. J. ROES

UITGEGEVEN TE AMSTERDAM DOOR SCHELTEMA EN HOLKEMA'S BOEKHANDEL. * * * * MCMXI

LEESMUSEUM AMSTERDAM M

Ex-libris
Charles Atwood
Kofoid

4784

DE OPSONINENLEER EN HARE DIAGNOSTISCHE WAARDE BIJ DE TUBERCULOSE

LEESMUSEUM AMSTERDAM M

DE OPSONINENLEER
EN HARE DIAGNOSTISCHE WAARDE BIJ DE TUBERCULOSE

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS Dr. J. TE WINKEL, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE AULA DER UNIVERSITEIT OP DONDERDAG 16 MAART 1911, DES NAMIDDAGS TEN 4 URE PRECIES, DOOR * * * * * * * * * * FRANS JOAN ROES, ARTS * * * * GEBOREN TE WAGENINGEN * * * * * * * * *

UITGEGEVEN TE AMSTERDAM DOOR SCHELTEMA EN HOLKEMA'S BOEKHANDEL. * * * * MCMXI

LEESMUSEUM AMSTERDAM M

AAN MIJNE OUDERS

Bij het voleindigen van mijn proefschrift nopen mij gevoelens van dankbaarheid een terugblik in het verleden te werpen en aan mijn Leermeesters, de Hoogleeraren der Medische en Philosophische Faculteiten, mijn groote erkentelijkheid voor Hun voortreffelijk onderwijs te betuigen.

Vooral U, Hooggeleerde RUITINGA, *mijn hooggeschatten Promotor, breng ik mijn dank voor het voorrecht, dat ik had als Uw assistent aan het laboratorium werkzaam te zijn, voor de waardevolle voorlichting, die ik steeds van U ontving, en den steun, dien Gij mij verleendet bij de bewerking van deze dissertatie.*

In aangename herinnering, Zeer Geleerde VAN SPANJE, *zal mij de tijd blijven, dien ik als assistent aan het Onze Lieve Vrouwe Gasthuis doorbracht, en waarin ik Uw zeer gewaardeerde leiding in de interne kliniek mocht ondervinden.*

Ten slotte een woord van erkentelijkheid aan Collegae PEL *en* TERWEN, *die mij bij mijne proeven en bij het vervaardigen der photographieën zijt behulpzaam geweest.*

EERSTE GEDEELTE.

„Je n'enseigne pas, je raconte".
Montaigne.

De studie der immuniteit heeft in de laatste jaren een grooten omvang verkregen; met de gaandeweg toegenomen kennis van de belangrijkste factoren, die het infectieproces en het verdedigingsmechanisme van het lichaam tegen de ingedrongen bacteriën beheerschen, is van alle zijden de belangstelling in dezen tak van wetenschap levendig geworden. Men heeft begrepen en reeds ondervonden, dat de grondige, op experimenteele basis rustende wetenschap van de verrichtingen van het geïnfecteerde organisme en van het infecteerende agens in sommige opzichten een heilzamen omkeer in ons klinisch denken zal brengen, en dat wij met nieuwe begrippen toegerust, met grootere vastheid ons zullen bewegen op diagnostisch terrein, het verloop der infectieziekten beter zullen waardeeren, en dat wij op meer rationeele en succesvolle wijze die ziekten zullen kunnen leeren bestrijden. Op het gebied der diagnostiek heeft al menig nieuwgevonden feit een toepassing gevonden; ik behoef slechts te herinneren aan de agglutinatiemethode van Widal, aan de verschillende tuberculine-reacties (Koch, v. Pirquet, Calmette) en aan de methode van het aantoonen van specifieke verweerstoffen door binding van

het complement (Bordet—Gengou, Wassermann). Naast deze neemt de methode van het opsoninen-onderzoek, door Wright ingevoerd en door zijn medewerkers vooral in Engeland en Amerika verspreid, een belangrijke plaats in, ten eerste omdat zij nauw samenhangt met een nieuwe verklaring der immuniteit, waarvan Wright zelf de vader is, en dan, omdat ze volgens haar verdedigers een zeer groote aanwinst is geworden voor de herkenning en de behandeling van besmettelijke ziekten. In de laatste jaren is deze leer ook in andere landen en met name in Duitschland aan een kritisch onderzoek onderworpen, en heeft daarbij een zeer verschillende waardeering gevonden. Algemeen erkent men het belang der feiten, die Wright heeft vastgesteld en waarmede hij een nieuw licht wierp op het mechanisme van het proces der phagocytose; de beteekenis voor de kliniek wordt echter zeer uiteenloopend beoordeeld. In ons land zijn twee dissertaties over het opsoninenvraagstuk verschenen[1]), die zich bijna uitsluitend op theoretisch terrein bewegen. Hieraan voeg ik een derde studie toe, waarin aan de kritiek van de practische toepassing een belangrijke plaats is ingeruimd. Ik heb nagegaan in hoeverre bij een der meest belangrijke infectieziekten, de tuberculose, het opsoninenonderzoek ons voor diagnose en prognose den weg kan wijzen. Maar daarnaast meende ik ook het theoretische gedeelte te moeten bespreken, omdat ik uit de studie van de litteratuur over de opsoninen en haar plaats in de immuniteitsleer belangrijke punten voor de beoordeeling van de methode heb geput, en omdat sinds het verschijnen van de beide genoemde proefschriften

---

1) J. G. Sleeswijk, Phagocytose en opsoninen en L. S. Hannema, Onderzoekingen over opsoninen, beide Amsterdam 1908.

zooveel nieuwe feiten, die in verband staan met het wezen en de werking der opsoninen, zijn bekend geworden, dat ik niet heb geaarzeld hieraan eenige bladzijden te wijden, op gevaar af nu en dan in herhaling te vervallen.

Men heeft er steeds op gewezen, dat Wright met zijn nieuwe leer de oorzaak is geweest, dat de twee zoo scherp tegenover elkaar staande richtingen in de verklaring der immuniteit, de humorale (Pfeiffer) en de cellulaire (Metchnikoff), zijn verzoend geworden. Maar men vergeet hierbij, dat de waarheid al veel vroeger was doorzien door Leclef, Denys[1]), Savtchenko, Tassarevitch, Besredka. De eerste twee leverden met een klassiek experiment het bewijs, dat bij het immune dier de phagocytose daarom sneller in haar werk gaat, omdat in het serum specifieke phagocytose-bevorderende stoffen zijn opgetreden. Denys spoot in het konijnenoor een mengsel van zeer virulente strepto- en pneumocokken eerst met antistreptocokkenserum, daarna met antipneumocokkenserum; in 't eerste geval werden alleen streptocokken, in het tweede alleen pneumocokken door de witte bloedlichaampjes opgevreten. En dat de specifieke stof niet als stimuline op de leucocyten werkt, maar op de bacteriën haar werking uitoefent, bewees hij hierdoor, dat met specifiek antiserum voorbehandelde streptocokken voor normale dieren hun schadelijkheid verloren hadden. Savtchenko[2]) en Tassarevitch[3]) bestudeerden de opneming van roode bloedlichaampjes in de peritoneaalholte; ze vonden daarbij de oude inzichten van Metchnikoff bevestigd, n.l. dat zich het immune- en het normale dier

1) Zie o. a. Von Gruber, Centralbl. f. Bact. Beil. z. Abt. I, Bd. 44, Ref. p. 2.
2) Ann. de l'Inst. Past. 1902 p. 106.
3) Ann. de l'Inst. Past. 1902 p. 127.

dáárdoor onderscheiden, dat het eerste door een onmiddelijk optredende en krachtige phagocytose zich bevrijdt van de ingebrachte roode bloedlichaampjes, terwijl bij het laatste dat proces op zich laat wachten. Zij vragen zich af, hoe dan die betere functie der leucocyten is te verklaren, en in beider arbeid vinden wij al een uiteenzetting van het mechanisme der phagocytose. waarmee wij nu geheel zouden instemmen en die volgens mijn overtuiging in sommige opzichten nader bij de waarheid is dan de opvatting van Wright.

Tassarevitch schrijft: „Pourquoi cette exagération des functions phagocytaires? S'agit-il ici, pour ainsi dire, d'une éducation des leucocytes ou d'une action stimulante de la part des fixateurs?" En bij Savtchenko lezen wij: „L'action du sérum transforme alors le microbe pathogène en saprophyte facilement phagocyté par les leucocytes. A ce point de vue, les substances immunisantes servent, dans le phénomène de la phagocytose. d'intermédiaires entre l'objet phagocyté et le phagocyte. C'est pourquoi elles méritent entièrement la dénomination de corps intermédiaires (Zwischenkörper), que leur a donnée Ehrlich guidé par les considérations sur leur action humorale dans l'immunité."

En geheel hiermede in overeenstemming is Besredka[1]), die na inspuiting van met immuunserum voorbehandelde bacteriën bij een voortreffelijk geslaagde immuniseering elke plaatselijke reactie zag ontbreken, en tot verklaring van dit laatste verschijnsel het volgende toevoegt: „L'absence de la réaction locale est due très probablement à la présence du fixateur dans les bacilles injectés. Qu'il s'agisse de cellules ou de microbes, dès qu'ils sont chargés de la substance fixatrice, ils deviennent presque

---

1) Ann. de l'Inst. Past. 1902 p. 918.

instantanément la proie des phagocytes, alors que, dans des conditions normales, ces mêmes éléments auraient demandé des heures et des jours pour être complètement phagocytés."

In deze opvattingen van de school van Metchnikoff zien wij duidelijk hoe men daar reeds het nauwe verband en de bewonderenswaardige samenwerking inzag van de lichaamsvochten met de cellen bij het verdedigingsproces van het geïnfecteerde organisme, terwijl ter zelfder tijd in Duitschland de humorale school (Pfeiffer) met een zeldzame vinnigheid en gemis aan objectiviteit haar denkbeelden tegenover de cellulaire theorie trachtte te doen zegevieren[1]). En nu kwam in 1903 Wright met zijn opsoninen-theorie. Wright was humoraal-patholoog en stond oorspronkelijk op het standpunt, dat de immuniteit verklaard wordt door de antitoxische of door de bactericiede kracht der lichaamsvochten. Maar ook hem had deze theorie in twee opzichten onbevredigd gelaten, n.l. 1e. de antibacteriëele stoffen werken slechts bij groote uitzondering lytisch; ondanks aanwezigheid van met de methode van Bordet-Gengou aantoonbare antilichamen blijft de lysis in de meerderheid van de gevallen achterwege en 2e. er is geen parallelisme tusschen de immuniteit van een dier en de bacteriëndoodende kracht van zijn bloedserum. En zoo kwam hij ertoe meer aandacht aan het proces der phagocytose te schenken.

Hij vergeleek de werking der witte bloedlichaampjes in verschillende media, en vond, dat deze in zoutsolutie veel zwakker is dan in normaal serum. Verhitte hij te voren het serum ½ uur tot 56°, dan zag hij, dat de leucocyten veel minder phagocytaire kracht ver-

1) Men leze hierover het artikel van Metchnikoff over Phagocytose in Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Micro-organismen Bd. IV. T. I p. 332.

toonden, en dat hun vreetlust bijna even zwak was geworden als in een indifferente vloeistof. Hieruit concludeerde hij, dat in normale sera een stof aanwezig moet zijn, die op de phagocytose van grooten invloed is, en dat deze stof thermolabiel is. Dat zij niet als een stimuline op de leucocyten werkte maar op de microben, bewees hij aldus: bacteriën, die gedurende eenigen tijd met versch serum in aanraking waren geweest, en daarna door centrifugeeren van het serum waren gescheiden, bleken veel gemakkelijker gephagotyceerd te worden, terwijl van den anderen kant leucocyten, die op dezelfde manier als de bacteriën met serum waren voorbehandeld, geen grootere werkzaamheid ontwikkelden dan leucocyten, die niet aan den invloed van het serum waren blootgesteld. In normaal serum dus moet de stof aanwezig zijn, die de bacteriën prepareert voor de vreetlust der leucocyten, en deze stof noemde hij opsonine (van *'οψονεω* — ik bereid ten maaltijd voor). Zij zou met de tot nu toe bekende serumstoffen niet identiek zijn, thermolabiel en specifiek. Een immuunserum onderscheidt zich in zijn opsonische eigenschappen van een normaal serum alleen quantitatief, niet qualitatief. Naast de antitoxische en de antibacteriëele is er dus een opsonische immuniteit. De phagocyten spelen slechts een ondergeschikte rol, de opsonisatie van de bacteriën is het voornaamste. Hij blijft dus ondanks alles meer de humorale theorie dan de cellulaire toegedaan, en de leucocyten zijn „die Krematoriën der aus anderen Gründen abgestorbenen oder absterbenden Bacterien" [1]).

Nu ben ik van meening, dat Wright een stap achteruit gedaan heeft met in de opsoninen een nieuwe groep

---

[1]) v. Baumgarten, Münch. med. Woch. 1908 p. 1473.

van antistoffen te zien en ik hoop in dit eerste gedeelte aan te toonen, dat de Fransche school, voordat het begrip „opsonische werking" nog in de wetenschap was ingeburgerd, veel juister heeft gedaan door aan te nemen, dat de bacteriolytische werking en de opsonisatie verschillende functies zijn van eenzelfde antilichaam. Verder wil ik doen inzien, dat ook in een ander opzicht de Fransche school gelijk heeft, dat de rol der leucocyten een veel belangrijkere is dan Wright zich die voorstelt, en dat tengevolge van die grondfout van zijn humorale ideeën ook zijn methode voor de kliniek een onvolmaakte is. Om dit alles te bewijzen ben ik verplicht nader in te gaan op de resultaten van de vele onderzoekingen, in de laatste jaren gedaan met het doel de structuur en de werking van de opsoninen vast te stellen.

Voorop dient dus gesteld te worden, dat Wright in normaal- en immuunserum thermolabiele specifieke opsoninen aanneemt, en dat een immuunserum zich in den phagocytose-bevorderenden invloed van een normaal serum alleen onderscheidt door de grootere concentratie van de opsoninen.

In 't algemeen kan men zeggen, dat, waar het onderzoek van immuunsera zeer gemakkelijk de specificiteit van de antilichamen doet kennen, ditzelfde onderzoek bij normale sera op veel grooter moeilijkheden stuit, ofschoon ook daarin zonder twijfel verweerstoffen (en dikwijls specifieke) aanwezig zijn. Zoowel immuun- als normaal serum bevat opsoninen, daaraan twijfelt niemand meer. Maar toen de verschillende onderzoekers naar het voorbeeld van Wright en zijn medewerkers nader ingingen op de studie van de phagocytose-bevorderende eigenschappen, kwam spoedig het verschil van inzichten

aan den dag. Wright c.s. achtten de opsoninen stoffen „sui generis", met geen der andere bekende antistoffen te identificeeren, en gekenmerkt door haar thermolabileit en specificiteit. Tot steun van deze opvatting heeft hij ten eerste proeven in vitro genomen, en verder uit de klinische waarneming zijn bewijsgronden geput. De proeven in vitro bestonden hierin, dat normaal serum gedurende 1 uur op 37° met emulsies van verschillende bacteriën werd samengebracht, en dan werd nagegaan of de opsoninenabsorpsie, die hiervan het gevolg moest zijn, een electieve was; de onderzoekingen van de Engelsche auteurs beantwoordden deze vraag in positieven zin. Bulloch en Western[1]) brachten normaal menschenserum met een suspensie van staphylococcus aureus samen en lieten dit mengsel 1 uur bij 37° staan. Daarna werden door centrifugeeren de „geopsoniseerde" kokken gescheiden van de bovenstaande heldere vloeistof. Een gedeelte van deze werd achtergehouden, de rest 1 uur bij 37° met een suspensie van bacillus pyocyaneus samengebracht, waarna ook deze bacteriën door centrifugeeren werden neergeslagen en de vloeistof afgepipetteerd. Nu vonden zij, dat het met staphylocokken behandelde serum zijn opsonische werking tegenover den b. pyocyaneus zoo goed als geheel onveranderd had behouden, terwijl door de nabehandeling met den b. pyocyaneus alle opsonine verdween ten opzichte van dezen microbe. Op dezelfde wijze zagen zij, dat normaal serum met staphylococcus-emulsie behandeld, zijn opsonine tegenover deze verloor, terwijl de tuberculo-opsoninen niet of weinig verminderd werden. Precies het omgekeerde had plaats door behandeling van hetzelfde serum met een suspensie van tuberkelbacillen. Ofschoon

---

[1]) Proc. Roy. Soc. B. vol. 77, p. 532.

ze uit deze proeven besloten tot de specificiteit van de opsoninen, laten ze toch in hun mededeeling niet onopgemerkt voorbijgaan, dat door de behandeling met staphylocokken en tuberkelbaccillen ook de niet corresponderende opsoninen een kleine vermindering ondergingen, m. a. w. er heeft ook een klein verlies van niet-specifieke opsoninen plaats.

De uitkomsten van Bulloch en Western zijn als volgt:

Normaal serum: Phagocytaire index t. o. v. tuberkelbacillen = 3,13
„ „ : „ „ „ „ „ staphylocokken = 12,6
Norm. ser. m. tub. bac. voorbeh.: Phag. index t. o. v. tub. bac. = 0,4
„ „ „ staphyloc. „ : „ „ „ „ „ staphyloc. = 0,43
„ „ „ tub. bac. „ : „ „ „ „ „ staphyloc. = 9
„ „ „ staphyloc. „ : „ „ „ „ „ tub. bac. = 2,7

In proefnemingen, die hij te zamen met Atkin deed, vond Bulloch[1]) verder, dat door voorbehandeling van een serum met een bacteriënsuspensie, onafhankelijk van de temperatuur, waarbij deze plaats heeft (dus ook bij 0°), door absorpsie de opsoninen na 10 minuten verdwijnen.

Door waarneming van patiënten, die met eenig vaccin behandeld werden, trachten ze hun inzichten over de specificiteit der opsoninen te bevestigen. Zoo vermelden genoemde auteurs verschillende opsoninbepalingen, verricht met het serum van lupuslijders. Ze gingen de schommelingen na van de krommen van den tuberculo- en staphylo-opsonischen index na injecties van tuberculine resp. staphylocokken-vaccin en zagen, dat de hierna opgenomen curven geheel van elkaar onafhankelijke schommelingen vertoonden. Werd tuberculine ingespoten, dan vertoonde de curve van den tuberculo-opsonischen index de bekende schommeling van negatieve en positieve phase, terwijl de curve van den index ten opzichte van

1) Zie Wright, Studien über Immunisierung p. 76.

staphylocokken niet beïnvloed werd. 't Omgekeerde had plaats na inspuiting van een staphylovaccin. Hetzelfde nu heb ik ook eens kunnen waarnemen bij een patiënt lijdend aan tuberculosis pulmonum, die tweemaal per week een injectie met tuberculine kreeg. Ik had tevens uit zijn sputum een staphylococcus kunnen kweeken en vergeleek nu beide curven 5 dagen; daarbij vond ik geheel analoog aan de resultaten van Bulloch en Western dat de tuberculine-injectie zich duidelijk uitdrukt in de tuberculo-opsonische kromme en in 't geheel niet in de staphylo-opsonische, zooals de figuur op pg. 122 duidelijk doet zien.

Ook in verschillende andere gevallen heb ik gelegenheid gehad serum van patiënten te onderzoeken op zijn gehalte aan tuberculo-opsonine en opsoninen gericht tegen de bij menginfectiën van lijders aan longtuberculose voorkomende microben. Ik geef later de verschillende tabellen weer, en ook daar kan men zich gemakkelijk overtuigen, dat de kromme van de verschillende opsonische indices in het geheel niet evenwijdig loopen. Dit alles is wel geschikt om ons te doen voelen voor het werkelijk specifieke karakter van de opsoninen.

Naast de specificiteit, die zich uit in een selectie der bacteriën en naast de eigenschap, om bij het proces der phagocytose de voorbereidende stof te zijn, die de bacteriën geschikt maakt om door de leucocyten opgenomen te worden, gaf Wright de thermolabiliteit als derde eigenschap, om met de vorige twee dit antilichaam zijn eigen plaats in te ruimen en als een geheel nieuw te doen kennen. Te zamen met Douglas deed hij vergelijkende proeven met verhit en onverhit serum en vond, dat door verwarming van normaal serum gedurende 10 à 15 min. op 56° de opsonische kracht daaruit ver-

dwenen was, en dat serum op 60 à 65° gedurende 10 min. verwarmd voor de phagocytose niet meer waarde had dan een physiologische zoutsolutie [1]). Uit deze drie eigenschappen meende Wright dan ook te mogen besluiten, dat de opsonine niet met andere bekende antilichamen was te identificeeren. De kritiek, die tegen Wright vooral van het vasteland is gekomen, heeft zijn opvatting in dezen vorm niet bevestigd en algemeen gesproken mag gezegd worden, dat de groote meerderheid der onderzoekers de opsoninen identificeert met andere reeds bekende antilichamen. In Duitschland is zeer veel in deze richting geëxperimenteerd geworden en feitelijk is daar het resultaat zoo éénstemmig, dat Neufeld heeft kunnen schrijven, dat niemand meer twijfelt aan de stelling, dat de opsonine-werking bestaat uit een amboceptor-complementwerking; daaruit volgt direct, dat normaalopsonine meer herinnert aan complement, geheel overeenkomstig de wanverhouding van amboceptor en complement in normaalserum, terwijl immuunserum, dat zich kenmerkt door een groote hoeveelheid specifieken amboceptor, in zijn phagocytosebevorderenden invloed juist van normaalserum verschilt in die eigenschappen, die ook amboceptor en complement van elkaar doen onderkennen.

Normaalopsonine herinnert in haar eigenschappen het meest aan het complement. De Pasteur'sche school [2]), die in den tijd van den strijd met de school van Pfeiffer zeer veel studies over complement heeft gemaakt, vond, dat de verdeeling van deze stof in het lichaam niet een gelijkmatige is, maar dat vooral daar groote hoeveel-

---

1) Proc. Roy, Soc. Vol. 72 p. 357.

2) Zie in Kolle u. Wassermann het artikel van Metchnikoff over Phagocytose.

heden zijn te vinden, waar leucocyten zijn te gronde gegaan. Zoo is de normale humor aqueus vrij van complement; in stuwingsoedeem, mits men zorg drage geen bloeduittreding op te wekken, is geen spoor complement te ontdekken. Nu zag Levaditi [1]), dat het vocht van de voorste oogkamer vrij is van opsonine; hij vond bij de eerste punctie van den humor aqueus een phagocytairen index van 0,02 tegenover typhusbacillen, van 0,2 tegenover staphylocokken. Na de punctie echter komt het tot een invasie van leucocyten, de z.g. humor aqueus „de seconde formation" stolt gemakkelijker; tegelijk is er complement in aan te toonen en geheel daarmede overeenkomstig heeft dit vocht duidelijk opsonische kracht. Zur Nedden [2]) en Knapp [3]) deden dezelfde onderzoeking en vonden eveneens, dat bij niet geïmmuniseerde dieren de vaatlooze deelen van het oog geen opsonine bevatten. Maar ontstekingachtige processen van cornea, voorste kamer en glasachtig lichaam, alsmede subconjunctivale injecties van geconcentreerde zoutoplossing veroorzaken het optreden van complement en tevens van opsonine in de voorste kamer en het glasachtig lichaam.

Een groote overeenkomst van opsonine met complement bestaat verder hierin, dat beide onwerkzaam gemaakt worden door dezelfde processen [4]). Zoo wordt na toevoeging van gistcellen (v. Dungern) [5]) en van

---

1) Ann. Soc. Biol. 1907 T. 62 p. 726.

2) Zeitschr. f. Augenh. April 1908 p. 315.

3) Centralbl. f. Bact. 1910 Bd. 47 Ref. p. 475.

4) Zie o. a. Muir and Martin. Proc. Roy. Soc. Vol. 79 p. 887. We have shown (Brit. med. Journ. 1906 Vol. 2 p. 1783) that various substances or combinations of substances which absorb serum-complements also absorb the opsonins in question.

5) Münch. med. Woch. 1900 p. 677.

emulsies van orgaancellen[1]) door onspecifieke absorpsie de completeerende werking opgeheven; het gelukte Neufeld en Hühne[2]) een identieke werking van gistcellen op de opsoninen aan te toonen, terwijl Böhme[3]) vond, dat orgaancellen de opsonische werking van exsudaten verminderen of opheffen. Ook tegenover de werking van immuunsera gedragen beide zich gelijk. Sinds de mededeeling van Bordet over anticomplementhoudende sera heeft men ook zijn aandacht gewijd aan de mogelijke werking van het anticomplement op de opsoninen, en ook in dit opzicht heeft men weer gevonden wat Hartoch en Willim[4]) noemen de „verhängnisvolle Aehnlichkeit" van complement en opsonine. Levaditi en Koessler[5]) gelukte het met serum van een konijn, dat eenige malen met normaal caviaserum was behandeld, en zoo anticomplement tegen caviacomplement had gekregen, de opsonische werking van normaal caviaserum geheel te neutraliseeren. Voegden zij aan hun phagocytaire mengsels, waarin zij normaal caviaserum als milieu gebruikten, en achtereenvolgens werkten met emulsies van typhus- dysenteriebacillen en staphylocokken, geïnactiveerd anticomplementhoudend konijnenserum toe, dan kregen zij als phagocytairen index voor typhusb., dysenterieb. en staph. resp. 0.06, 0.04 en 0.08. Vervangen zij echter het immuunserum door normaal geïnactiveerd konijnenserum, dan werden de getallen: voor typhusb. 4.34, voor dysenterieb. 0.42, voor staphyloc. 4.26. Men ziet dus duidelijk, dat het anticomplement op onspecifieke wijze de werking van de

1) Archiv f. Hyg. 1905 art. v. Bail.
2) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte Bd. 25 H. 1 p. 164.
3) Deutsches Arch. f. klin. Med. 1909 Bd. 96 p. 195.
4) Wien. klin. Woch. 1908 p. 1411.
5) Ann. Soc. Biol. T. 62 1907 p. 685.

normaalopsonine heeft vernietigd. Maar nu vonden zij hierbij nog het zeer vermeldenswaardige feit, dat op immuunopsoninen van een antiopsonische werking van het anticomplement geen sprake was en deze omstandigheid bevestigt hen dan ook in de meening, dat immuunopsoninen zich wezenlijk van normaalopsoninen onderscheiden door vermeerdering van specifieke amboceptoren, die in normaal serum maar in sporen aanwezig zijn, en ook in het normaal serum na toevoeging van anticomplement de minimale rest van opsoninwerking verklaren, die in de proef van Levadit en Koessler aan de belemmerende anticomplement-werking weerstand biedt. Als een soortgelijk verschijnsel zagen genoemde auteurs ook, dat bij phosphorvergiftiging van een konijn de daarbij optredende vermindering van het complement (Ehrlich-Morgenroth) geheel samengaat met een vermindering in opsonische kracht van dat serum. (l.c. pag. 686). Geheel in overeenstemming hiermee publiceerden Hartoch en Willim[1]) proeven, waarbij ze vonden, dat bij dieren, lijdend aan trypanosomiasis, complement-vermindering in het bloed optrad, begeleid door en absoluut parallel verloopend aan een onspecifieke opsonin-vermindering. Ook von Gruber[2]) zag dikwijls, dat schommelingen van het complementgehalte van het serum gepaard gaan met schommelingen in de opsonische kracht.

Nadat Levaditi en Koessler gevonden hadden, dat complement en opsonine in hun gedrag tegenover anticomplement een eigenaardige overeenstemming vertoonden, heeft men ook gezocht naar een eventueel parallelisme van de werking van praecipiteerende sera op het proces der lysis en der phagocytose. Door den

---

[1]) Wien. klin. Woch. 1908 p. 1411.
[2]) Centralbl. f. Bact. Beil. z. Abt. I Bd. 44 Ref. p. 5.

arbeid van Friedberger, Moreschi en Bezzola was gebleken, dat met sommige precipiteerende sera de haemolyse op belangrijke mate kan worden versneld en versterkt. Daarvoor is noodig, dat men toevoegt aan de gesensibiliseerde roode bloedlichaampjes een precipiteerend serum, dat gericht is tegen die dierspecies, van wie de amboceptor afkomstig is (er mag echter geen vrije amboceptor aanwezig zijn, want dan heeft het omgekeerde plaats). Dit principe nu hebben genoemde auteurs toegepast in hun proeven over phagocytose en nagegaan of dergelijke sera in denzelfden zin de functie van de antistoffen bij de phagocytose beinvloedden. Hun resultaat was positief. Ik geef ter verduidelijking hunne uitkomsten in cijfers: 8 c.M.^{3} geïnactiveerd immuunserum van een paard afkomstig, wordt 1 uur op 37° samengebracht met een dichte typhusemulsie; de bacillen worden afgecentrifugeerd en 3 maal gewasschen; de helft van deze bacteriën wordt nu $^1/_2$ uur bij 37° behandeld met geïnactiveerd serum van een konijn, dat met paardeneiwit is behandeld; de andere helft onder dezelfde omstandigheden met geïnactiveerd normaal konijnenserum. En nu worden de verschillen van de phagocytose van de verschillend behandelde bacteriën nagegaan; zij vinden, dat de met immuunserum tegen paardeneiwit behandelde bacteriën veel sneller aan de phagocyten ten offer vallen en dat de intensiteit van de opsonische werking zeer verhoogd is; de phagocytaire indices bedragen resp. 9.5 en 2.4. Dus evenals de haemolyse onder invloed van het immuunserum zeer versneld en versterkt werd, was ook de snelheid van de phagocytose tot het viervoudige vermeerderd.

De resultaten van Neufeld en Hühne[1]) komen even-

---

1) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte Bd. 25 p. 164.

eens overeen met die van Levaditi en Koessler (zie pag. 13). Met precipiteerende sera gelukte het hun het complement te doen verdwijnen, een feit, dat zij gemakkelijk controleerden door uitblijvende haemolyse van gesensibiliseerde erythrocyten, maar zij vonden nu tevens, dat in genoemde sera de opsonine gebonden was geworden en onwerkzaam gemaakt. Reiter deed dezelfde proeven[1]) en vond hoewel minder duidelijk dan Neufeld en Hühne, dat bij samenbrengen van precipitine en precipitabele stof complement en tevens opsonine gebonden werd. Na dit alles dringt zich als van zelf de vraag naar voren, of de combinatie van antigeen en immuunlichaam m. a. w. het gesensibiliseerde antigeen[2]), dat zoo bij uitstek geschikt is om tot complementbinding aanleiding te geven, ook fixatie van het opsonim zal bewerken. En werkelijk, ook in dit opzicht kunnen wij wijzen op experimenten, die door hun positieve resultaten de opvatting versterken, die wij voorstaan. Kentzler[3]) vond ten eerste, dat de phagocytose-bevorderende invloed van normaal serum wordt beheerscht door zijn complementgehalte; door versch normaal serum, waarin overvloedig complement was, samen te brengen met emulsies van gesensibiliseerde typhusbacillen, absorbeerde hij, afhankelijk van den graad van verdunning van de emulsie, afgemeten hoeveelheden complement, en zag de intensiteit van de

---

[1]) Berl. klin. Woch. 1909 p. 1768.

[2]) „of special interest is the fact that red corpuscles and also heated normal sera which by themselves have no appreciable effect either on complements or on opsonins, absorb or fix both of these bodies when combined with their corresponding antisubstances, immune bodies and precipitins respectively. Since we have extended our experiments, we have always obtained the same result: the opsonin is always fixed when the complement is fixed". (Muir and Martin, Proc. Roy. Soc. Vol. 79 p. 187.)

[3]) Zeitschr. f. klin. Med. 1909 Bd. 67 p. 131 en Bd. 65 H. 1 en 2.

phagocytose afnemen in evenredigheid met het complementverlies. Omgekeerd deed hij de volgende proef: hij bepaalde hoeveel versch varkensserum (complement) noodig was om een zeker quantum gesensibiliseerde roode bloedlichaampjes op te lossen. Wanneer hij nu diezelfde hoeveelheid serum eerst samenbracht met gewasschen leucocyten en een microbensuspensie en na de phagocytose weer de haemolyse proef deed met dit serum, bleef haemolyse geheel uit. Werd het serum met leucocyten alleen samengebracht, dan bleek, dat zijn completeerende werking onveranderd was gebleven; werd het eerst gedigereerd met bacteriën, dan had een kleine vermindering plaats, die echter niet in verhouding stond tot de volkomen complementabsorpsie, die het phagocytaire proces had veroorzaakt. Twee gewichtige feiten volgen dus uit zijn proeven: a. de intensiteit van de phagocytose-bevorderende werking van een normaal serum neemt af bij vermindering van het complementgehalte en b. een normaal serum, dat bacteriën geprepareerd heeft voor de phagocytose, is niet meer in staat haemolyse te bewerken, wanneer het wordt samengebracht met gesensibiliseerd antigeen. Reiter[1]) heeft dit feit bevestigd en zelfs voorgesteld om bij het opsporen van antistoffen door complementbinding gebruik te maken van deze overeenkomst van opsonin en complement (of met andere woorden uitgedrukt van deze „opsonische functie" van het complement). Hij deed onderzoekingen met serum van patiënten lijdende aan lues en aan tuberculose en ging aldus te werk: Antigeen (bij lues het bij de Wassermann'sche reactie gebruikelijke en bij tuberculose Alttuberkulin) wordt samengebracht met geïnactiveerd

1) Berl. Klin. Woch. 1909 p. 1768.

onderzoekserum en versch cavia-complement, als contrôle wordt een mengsel van physiol. zoutsolutie, inactief onderzoekserum en versch complement gebruikt; alle buisjes worden 1 uur op 37° gebracht. Na dien tijd gebruikt hij beide mengsels afzonderlijk als milieu voor phagocytose proeven. Bij aanwezigheid van antigeen is na 1 uur het complement gebonden en de phagocytoseproef valt negatief uit; bij de contrôle krijgt hij wel degelijk phagocytose. Zoo gelukte het hem in alle gevallen van lues, die hij onderzocht, naar analogie van de uitblijvende haemolyse bij de Wassermann'sche proef door de uitblijvende phagocytose de ziekte aan te toonen. Zonder dat wij nu uit het voorgaande strikt genomen de gevolgtrekking mogen maken, dat opsonine en complement een en dezelfde stof zijn, geven toch dergelijke feiten ons het recht tot de bewering, dat de waarschijnlijkheid zeer groot is, dat de beide functies, de opsoniseerende en de completeerende door één lichaam worden verricht. Gaan wij nu ter bevestiging hiervan nader in op de overeenkomst, die opsonine en complement in hun gedrag tegenover verschillende andere invloeden vertoonen. Den weerstand tegen verwarming bespraken wij reeds. Normaal opsonine zoowel als complement is thermolabiel; hiermede bedoelen wij, dat verwarming gedurende $^1/_2$ uur op 56° ze verwoest. Het is goed in dezen vorm het begrip thermoresistentie voorop te stellen, omdat anderen, door een verkeerde bepaling van dit begrip tot een mijns inziens onjuiste, in ieder geval onvolledige, gevolgtrekking zijn gekomen wat betreft de identiteit van opsonine met amboceptor Een scheiding tusschen normaal- en immuunopsonine is b.v. bij Hannema niet te vinden; het verschil in thermoresistentie tusschen een normaal- en een immuunserum stelt hij niet als principieel verschillend tegenover

elkaar, maar dit is niet te verwonderen, gezien het zeer relatieve begrip dat hij aan de thermoresistentie hecht. Volgens Wright is de thermolabiliteit karakteristiek voor de opsoninen. Nu ontwijkt Hannema de moeilijkheid door te zeggen, dat de verminderde concentratie de oorzaak van die thermolabiliteit is, en omgekeerd is de groote concentratie van de fixateurs de reden van hun thermostabiliteit. En heel ingenieus toont hij ook werkelijk aan, dat bij verdunning van de amboceptoren het weerstandsvermogen tegen verwarming veel minder wordt en ten slotte verdwijnt. In precies omgekeerden zin heeft Wright geargumenteerd en geëxperimenteerd. Toen bleek, dat immuunopsonine voor het grootste gedeelte aan verwarming weerstand bood, en zijn tegenstanders de thermostabiliteit van het immuunopsonine stelden tegenover de karakteristieke thermolabiliteit van Wright's opsoninen, deed deze een verdunningsproef met immuunserum en vond, dat de daarin aanwezige opsoninen bij toenemende verdunning den weerstand tegen hitte verliezen, en ten slotte thermolabiel worden. Wij bedoelen echter met thermolabiel en thermostabiel, dat wanneer wij een serum, zooals het van het dier wordt verkregen, op 56° een half uur verwarmen, de fixateur behouden blijft en de cytase verdwijnt. Houden wij niet vast aan deze definitie, dan mogen wij ook niet gebruik maken van de resistentieverschillen om de beide genoemde serumstoffen van elkaar te onderscheiden. Want een feit is, dat de eigenschappen van de stoffen in het serum in hooge mate afhangen van physische toestandsveranderingen. De voorbeelden daarvan zijn te over. Tegenover het door Wright en Hannema gevonden feit noem ik b.v. als een typische eigenschap, dat het complement, dat onder normale omstandigheden niet zeer lang be-

waard kan worden, bij toevoeging van keukenzout (4 %) werkzaam blijft. (Friedberger[1]) Hetzelfde effect is te verkrijgen met indrogen van het serum; het merkwaardige is nu, dat in dergelijk ingedroogd serum het complement bovendien thermoresistent is geworden, (Friedberger[1]), Nugochi[2])), ja zelfs 1½ uur een temp. van 64° verdraagt. Door dezelfde bewerking van het serum is het complement tevens meer resistent geworden tegen inwerking van chemische agentia (phenol), terwijl ook zijn helioresistentie is toegenomen. Omgekeerd wordt door onttrekken van zout aan het serum het complement veel labieler. (Sachs en Ferruchi). Verder vonden Ferrata en Ferruchi[3]) dat bij dialyse het complement uiteenvalt in 2 gedeelten, waarvan het eene terug te vinden is in het globuline neerslag, en dat thermostabiel blijkt te zijn. Evenals voor den fixateur de thermoresistentie een zeer relatieve is, is dus de thermolabiliteit van de cytase dat eveneens.

Willen wij dan gebruik maken van het gedrag tegenover hitte ter identificeering resp. ter onderscheiding van antistoffen onderling, dan is het mijns inziens een allereerste eisch, dat dit onderzoek geschiede met stoffen, die zich in haar natuurlijke physische omstandigheden bevinden. En dan vinden wij, dat bij verhitting op 56° gedurende ½ uur normaal serum ongeveer geheel zijn opsonisch vermogen verliest en er een spoor slechts overblijft; maar immuunserum behoudt een zeer groot deel van zijn opsonisch vermogen en karakteriseert zich tegenover normaal serum door toename van specifieke thermostabiele opsoninen.

---

1) Berl. klin. Woch. 1907 en Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 46 p. 441.

2) Rockefeller Inst. f. med. Res. Vol. 7 1907 pag. 455.

3) Berl. klin. Woch. 1907 Nos. 16, 17, 19.

Ik noemde al de eigenschap van het complement om bij indroging te winnen in duurzaamheid en thermoresistentie. Hetzelfde heeft Nugochi gevonden voor de opsonine. Het zou interessant zijn ook ten opzichte van deze laatste door zouttoevoeging de door Friedberger voor complement gedane ervaring te controleeren. Opsonine en complement zijn beiden verder zeer gevoelig voor de reactie van het milieu; neutrale reactie is voor opsonisatie de beste volgens Nugochi, die in overeenstemming met Hectoen en Ruediger aantoonde, dat zure reactie opsonine belet zich op de bacteriën te fixeeren, evenals zij complement onwerkzaam maakt [1]). Alleen meent Nugochi dat opsonin iets gevoeliger is. Maar vergeten wij niet, dat in de phagocytoseproef een zeer gevoelig element in den vorm van de leucocyten optreedt, die bij de proeven met complement ontbreken. Wordt de opsoninwerking belemmerd door te sterke alcalische of zure reactie, dan is ze door neutralisatie weer te herstellen; dit geldt ook van het complement (Ehrlich, Morgenroth, Hecker [1]). Over de verzwakking van de opsoninen door ouder worden van het serum loopen de meeningen zeer uiteen; Wright zag binnen de 3 dagen een verlies van $^1/_3$— $^1/_2$; na eenige dagen was de opsonine onwerkzaam. Bij bewaren in de ijskast was na 10 dagen volgens Jessie Horton [1]) de werking onverminderd, en na 4 weken nog niet geheel weg. Bulloch en Atkin [2]) zagen, dat bij bewaren van een serum in ijswater gedurende 24 uur de opsonische kracht weinig vermindert (± $^1/_3$); bij gewone temperatuur zagen ze practisch geen afname.

---

[1]) Geciteerd naar Fornet en Porter, Centr. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 51 H. 2 p. 138.

[2]) Proc. Roy. Soc. Vol. 74 1905 p. 379.

Bächer[1]) zag na 14 dagen de opsoninen geheel uit een serum verdwijnen.

Fornet en Porter[2]) vonden zeer verschillende waarden voor verschillende sera. Zoo onderzochten zij een paratyphusserum, dat na 25 dagen nog een zeer flinke opsoninwerking gaf (phagocytaire index van 19 tegenover 0,6 van physiol. zoutsol.), terwijl de lysis verdwenen was. Nu vermelden zij deze uitkomst als een bewijs dat opsonine niet te identificeeren is met fixateur of cytase; m. i. echter ten onrechte. Dat de lysis na 25 dagen weg was, laat zich gemakkelijk verklaren door complementverlies. Dat het serum een zeer groote opsonische werking had overgehouden, vindt zijn grond in het feit, dat het nog een groote hoeveelheid amboceptoren bevatte, die hier de opsonische werking verrichtten.

Wij komen nu tot een onderzoek van de laatste jaren, dat een nader inzicht geeft in de structuur van complement en opsonine, n.l. de invloed van de dialyse.

Ferrata[3]) vond, in aansluiting van de vroegere bevinding van Buchner, dat wanneer men in een haemolyseproef voor verdunning van amboceptor en bloedlichaampjes zoutarme resp. zoutvrije vloeistoffen gebruikte (hij nam isotonische suikeroplossing), en ook uit het serum dat als complement gebruikt wordt, door 24 uur lange dialyse tegen stroomend water, alle zout verwijdert, elk spoor van haemolyse ontbreekt. Het complement kan in een zoutarm milieu zijn werking niet ontvouwen. Bij de dialyse van het serum zijn de volgende verschijnselen opgetreden: *a.* het volume van de vloeistof in den dialysator is vermeerderd (osmotische

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. 1907 p. 33.

[2]) Geciteerd naar Fornet en Porter, Centr. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 51 H. 2 p. 138.

[3]) Berl. klin. Woch. 1907 No. 13.

drukverschillen hebben water door de membraan doen passeeren), *b.* er is wegens het onttrekken van zout aan het serum een globulineneerslag ontstaan. Nam Ferrata nu dit neerslag met de overige in den dialysator zich bevindende vloeistof (dit geheel wordt „Gesamtdialysat" genoemd), en herstelde hij de vroegere zoutconcentratie, dan bleek dit Gesamtdialysaat weer volkomen zijn completeerende werking te hebben herkregen, een bewijs dus, dat door de dialyse het complement niet als zoodanig is verwoest, en verder dat het in den dialysator is achtergebleven. Maar probeerde hij de completeeringsproef achtereenvolgens met het afgecentrifugeerde, meermalen gewasschen en daarna weer in physiologische zoutsolutie opgeloste globulineneerslag, of met de na centrifugatie en filtratie overgebleven heldere vloeistof (filtraat), dan bleken deze beide deelen van het „Gesamtdialysaat" niet tot oplossing van de gesensibiliseerde bloedlichaampjes in staat. Filtraat en opgelost globulineneerslag vereenigd hebben weer onverzwakte completeerende kracht.

Door dialyse is dus het complement uiteengevallen in 2 componenten, waarvan de eene is terug te vinden in het globulineneerslag, de andere in het vloeibare gedeelte van het „Gesamtdialysat" achterblijft.

Brand[1]) en Hecker[2]) bevestigden Ferrata's proeven. Hata[3]) nu onderzocht het gedrag van de opsoninen tegenover dialyse, en zijn uitkomsten zijn te verrassend en ook te overtuigend om ze niet in extenso mede te deelen. Hij dialyseerde normaal caviaserum in een vischblaascondoom 24 uur lang tegen verschillende vloeistoffen en vergeleek daarna onderling de opsonische

1) Berl. klin. Woch. 1907 No. 34.
2) Arb. a. d. Kön. Instit. f. exper. Ther. Frankfurt 1907 H.3.
3) Zeitschr. f Hyg. Bd. 61 p. 81.

kracht van de componenten, geheel naar analogie van wat Ferrata deed. Zoo maakte hij phagocytaire mengsels, waarin achtereenvolgens als milieu dienst deden: *a.* het oorspronkelijke serum, *b.* het „Gesamtdialysat", *c.* het filtraat, *d.* het globulineneerslag (opgelost in physiologische zoutsolutie). Hij gebruikt verder een emulsie van staphylocokken en gewasschen normale leucocyten. Ik geef zijn resultaten in hun geheel weer.

	1e Proef.	2e Proef.	3e Proef.
I. Physiolog. zoutsol. staphyloc. leucocyten.	(Phagocytaire) I = 2,74	0,30	0,46
II. Oorspronkel. serum staphyloc. leucocyten.	I = 14,74	I = 7,49	I = 15,02
III. „Gesamtdialysat" staphyloc. leucocyten.	I = 12,36	I = 6,20	I = 12,03
IV. Filtraat staphyloc. leucocyten.	I = 3,59	I = 1,56	I = 0,54
V. Filtraat + globulineneerslag. staphyloc. leucocyten.	I = 10,75	I = 5,92	I = 9,15
VI. Globuline-neerslag staphyloc. leucocyten.	I = 2,35	I = 0,45	I = 0,50

Dat wil dus zeggen dat door dialyse het normaalopsonine evenals de haemolytische cytase uiteenvalt in 2 op zichzelf onwerkzame componenten. Het gelukt

evenals wij dit bij het complement gezien hebben de 2 componenten weer te vereenigen en daarmede de opsonische kracht bijna op dezelfde waarde te herstellen als die van het „Gesamtdialysat". Vergelijken wij echter de opsonische kracht van dit laatste of van het mengsel van filtraat en sediment met die van het oorspronkelijke serum dan is er een duidelijke vermindering. Ofschoon dus de opsonine gevoeliger is tegenover den physico-chemischen invloed der dialyse dan het complement, is het resultaat zeer suggestief, en doet ons zien, hoe sterke gelijkenis van structuur zij hebben. De grootere fijnheid van de opsonische reactie mag ons ook nu weer niet verwonderen, als wij bedenken, dat Hata bij deze proeven leucocyten moest gebruiken die niet ongevoelig zijn voor de physische en chemische veranderingen van het milieu. Reeds vóór Hata was in denzelfden zin geëxperimenteerd door Fornet en Porter [1]), die vonden, dat een paratyphus B. immuunserum door dialyse zijn opsonische werking had verloren, terwijl de lytische werking intact was gebleven. Genoemde onderzoekers, die evenals Wright de opsonine als autonome antistof beschouwen, zagen in deze omstandigheid, waarbij ze dus in een immuunserum de opsonische werking van de lytische scheidden, een zeer waardevollen steun voor hun inzichten. Ook von Gruber [2]), die overigens geheel vóór de identiteitstheorie is, noemt dit resultaat „ein äuszerst wichtigen Einwand". Van belang is echter, dat ze toegeven, dat in de vloeistof buiten de membraan geen opsonische werking was aan te toonen, m. a. w. het opsonin was niet als zoodanig met de dialyse uit het serum verdwenen. V. Gruber merkt dan ook al op, dat misschien door de onttrekking

1) Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 48 p. 469.
2) Centralbl. f. Bact. Beil. z. Abt. I Bd. 44 Ref. p. 6.

van sommige bestanddeelen (zout b.v.) door de dialyse de alexine haar opsoninewerking kan hebben verloren.

Echter blijkt uit proeven van Pribram [1]), die op instigatie van von Gruber de experimenten van Fornet en Porter controleerde, en het bacteriolytisch en opsonisch vermogen bij dialyse van serum onderling vergeleek, dat in tegenstelling met wat Fornet en Porter vonden de bacteriolytische en opsonische kracht tegelijkertijd bij de dialyse verdwijnen.

Uit zijn stukje neem ik de volgende zeer sprekende cijfers over:

A. Phagocytose proef (met paratyphus B. bacillen).

	1e pr.	2e pr.	3e pr.	4e pr.
Niet gedialys. serum: Phagocytaire Index =	1,5	1,5	1,3	1,1
Keukenzoutcontrôle: „ „ =	0,6	0,6	0,07	0,07

Van dit serum onderwerpt hij 2 hoeveelheden (een groote en kleine [2])) aan dialyse gedurende 5 uur en vindt dan de phagocytaire indices resp.

1e proef	0,5 en 0,4
2e „	0,4 „ 0,5
3e „	0,2 „ 0,3
4e „	0,4 „ 0,2

B. Bacteriocidieproef met paratyphus B bacillen, de cijfers geven het aantal opgekomen culturen aan:

	Na 0 uur.	Na 1 uur.	Na 3 uur.	Na 7 uur.
groote hoeveelheid serum (niet gedialyseerd)	30	7	2	0
kleine „ „ („ „)	53	5	1	0
groote „ „ (1½ uur „)	13	12	49	∞
kleine „ „ (1½ „ „)	42	21	120	∞
groote „ „ (5 „ „)	33	16	∞	∞
kleine „ „ (5 „ „)	199	161	∞	∞

[1]) Wien. klin. Woch. 1910 p. 1131.

[2]) Meenend, dat de omstandigheid, dat Fornet en Porter in hunne proeven zeer kleine hoeveelheden serum hadden gebruikt, van invloed kon geweest zijn op hunne uitkomsten, deed hij zijn dialyseproeven achtereenvolgens met een grootere (0,25 — 1 cM³) en kleinere (0,25 — 0,3 cM³) hoeveelheid serum.

Ik meen, dat deze cijfers voldoende de bewering van Fornet en Porter, dat door dialyse de opsonische en bacteriociede eigenschappen van het serum te scheiden zijn, weerleggen.

Fornet en Porter hebben later met normale sera hun proeven voortgezet [1]), en gevonden, dat door dialyse van versch normaal serum antiopsoninen ontstaan, die zich uitsluitend richten tegen de thermolabiele opsoninen. Het gedialyseerde serum en in sterkere mate nog de voor de dialyse gebruikte keukenzout-oplossing kregen antiopsonische eigenschappen. Dit resultaat leert alweder, hoe uiterste voorzichtigheid te raden is met de interpretatie van de zooeven vermelde proef van Fornet en Porter met het paratyphus B. serum. Bij hun proeven met gedialyseerd normaal serum vonden ze overigens hetzelfde wat Hata vond, namelijk dat het gedeeltelijk onwerkzaam wordt. De opsonine als zoodanig is echter niet dialyseerbaar, want het vocht buiten de membraan krijgt geen phagocytose-bevorderende eigenschappen. Geheel hetzelfde resultaat vinden wij bij York en Smith [2]), terwijl ook Lamar, Bisphan en Simon [3]) tot dezelfde conclusie komen. De laatste 3 onderzoekers dialyseerden normaal serum tegen stroomend water; na 40—60 uur had het gedialyseerde serum zijn opsonische werkzaamheid verloren. Maar hierbij merken ze op „the appearance of the leucocytes suggested that the negative effect might very well be due to the atonicity of the dialyzed fluid." Na toevoeging van een genoegzame hoeveelheid Ringer's oplossing, zagen ze de phagocytose in het gedialyseerde serum gedeeltelijk weer toenemen.

---

1) Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig. Bd. 51 H. 2.
2) Biochem. Journ. Liverpool. Vol. II 1906 p. 2.
3) Rockefeller Instit. f. med. Research. Vol. VI 1907 p. 651.

Na de proeven van Hata[1]) weten wij nu echter, dat niet alleen het door de dialyse bewerkte zoutverlies van het serum, maar ook wel degelijk het uiteenvallen van de opsonine de oorzaak van de verminderde phagocytose is.

Mutermilch[2]) vermeldt nog proeven, die in dit verband niet misplaatst zijn. Frouin had aangetoond, dat bij dialyse in collodiumzakjes van haemolytisch serum de sensibilisatrice de membraan passeert, terwijl de cytase achterblijft[3]). Mutermilch bevestigde dit feit en vond hetzelfde voor de sensibilisatrice van de cholera, en van de trypanosomiasis, voor tetanusantitoxin en verschillende normale en specifieke haemolysinen. Naar aanleiding hiervan ging hij het gedrag van normaal- en immuunopsonine bij de dialyse vergelijken; voor het eerste nam hij versch caviaserum; het immuunserum werd verkregen van cavia's, die 2 maal met $^1/_{10}$ cultuur gedoode typhusbacillen waren ingespoten.

Ziehier den uitslag van zijn proeven in cijfers weergegeven:

	1e proef.	2e proef.
I. Phagocytaire index van versch normaal caviaserum vóór de dialyse	1,02	0,47
Phagocytaire index van versch normaal caviaserum na passage door den dialysator	0,11	0,03
Phagocytaire index van hetzelfde serum geinactiveerd vóór de dialyse	0,12	0,02
Phagocytaire index van hetzelfde serum geinactiveerd na de dialyse	0,10	0

---

1) Hata herstelde bij de phagocytoseproeven met het gedialyseerde serum door zouttoevoeging de isotonie.

2) Ann. Soc. Biol. T. 67 p. 654.

3) „Dans les serums hémolytiques, la sensibilisatrice seule traverse la paroi de collodion, l'alexine reste à l'intérieur du filtre.

Si l'on filtre du sérum normal sur sac de collodion, le filtrat ne peut pas réactiver un serum hémolytique chauffé à 56°; tandisque la partie qui reste sur le filtre possède cette propriété réactivante". (Frouin, C. R. Ac. Scienc. T. 147 p. 650.)

	1e proef	2e proef.
II. Phagocytaire index van versch immuunserum vóór de dialyse	0,3	0,33
Phagocytaire index van hetzelfde serum na passage door de dialyse membraan . . .	4,2	1,82
Phagocytaire index van hetzelfde serum geinactiveerd en niet gedialyseerd.	2,3	1,4
Phagocytaire index van hetzelfde serum na passage door de membraan en daarna geinactiveerd		2
Phagocytaire index van hetzelfde serum geinactiveerd en daarna gedialyseerd. . . .		2,2

Zijne conclusies luiden: „Les opsonines normales, se comportant comme l'alexine, ne traversent pas les sacs en collodion. L'indice phagocytaire des sérums spécifiques après leur passage par le filtre est toujours très élevé; c'est que le complement étant retenu, l'ambocepteur seul traverse le filtre, et l'opsonisation s'exerce par l'ambocepteur seul comme dans les serums chauffés".

Dus evenals amboceptor en complement, is het mogelijk immuun- en normaalopsonine door middel van dialyse te scheiden.

Ten slotte wil ik de aandacht vestigen op de absorpsieproeven. Juist in dit punt zijn de verschillende onderzoekers tot zulke uiteenloopende resultaten gekomen. Ik vermeldde al, dat Wright, Bulloch en Western zagen, dat in normaal serum door bacteriën opsonine wordt geabsorbeerd, en dat die absorpsie een specifieke is. Reeds vroeger had Bulloch met Atkin[1]) dergelijke proeven verricht, en toen ze het absorpsievermogen bij 0° en bij 37° vergeleken kregen ze uitkomsten, die een grooten steun brachten aan Wrights voorstellingen. Het schema van hun proeven is als volgt (l.c. pag. 386). Normaal serum werd gedigereerd met een gelijk volumen

1) Proc. Roy. Soc. Vol. 74 p. 379.

kokken bij 37° C., na 15 min. werd gecentrifugeerd. Zoo scheidden ze de heldere vloeistof A van de voorbehandelde kokken A'. Hetzelfde bij 0° herhaald leverde hun vloeistof B en de voorbehandelde kokken B'.

Norm. Ser.	+	niet behandelde kokken	+	leuc.	I = 31
vl. A.	+	normale kokken	+	„	I = 1
„ B.	+	„ „	+	„	I = 2,5
„ A.	+	kokken B.	+	„	I = 27
„ A. + B.	+	normale cokken	+	„	I = 3
Norm. Ser.	+	kokken A'	+	„	I = 28
„ „	+	„ B'	+	„	I = 26.5

Bulloch en Atkin[1]) leggen hierbij nadruk op het feit, dat zoowel bij 37° als bij 0° opsonine vatbaar is voor complete absorpsie. „This experiment shows the disappearance of the opsonin from the serum at 37° and 0°." Ehrlich en Morgenroth hadden vroeger aangetoond, dat de lysine bij 0° volstrekt niet in staat is zich in zijn geheel op het antigeen te fixeeren, maar dat bij 0° alleen de werking van den fixateur tot ontwikkeling komt. Uit die eigenaardige tegenstelling concludeeren Bulloch en Atkin dan ook: „Opsonin is not identical with *any* of the anti-bodies hitherto discovered in the serum (l.c. p. 387)." Maar hunne conclusie, dat de absorpsie van opsonine ook in normaal serum specifiek is, en reeds bij 0° plaats heeft, kan in dien vorm niet gehandhaafd worden. De litteratuurstudie zal ons daarvan overtuigen.

Stellen wij nog eens duidelijk het standpunt van de school van Wright voorop, dan kunnen wij zeggen, dat zij in hun absorpsieproeven één van de schakels van hun bewijsvoering zien, dat normaal — evenals immuunopsonine een „enkelvoudig" lichaam (van niet complexen bouw) en specifiek is. Het verschil in thermoresistentie

---

[1]) Proc. Roy. Soc. Vol. 74 p. 379.

is voor hen geen bewijs tegen hun stelling, maar wordt eenvoudig door de grootere concentratie van de immuunopsonine verklaard, waardoor een louter quantitatieve toename in de opsonische werking van een immuunserum wordt bereikt. Daar tegenover stel ik de volgende feiten: De absorpsieproeven vallen bij andere onderzoekers dikwijls niet uit in denzelfden zin als bij de onderzoekers van de Wright'sche school en hiervoor is een verklaring te vinden in de aanname, dat de opsonine in actief normaal of immuunserum een complex lichaam is, (Ik maak echter nu reeds de restrictie, dat voor opsoninewerking het vereenigd optreden van 2 componenten niet een „conditio sine qua non" is, maar hierop kom ik later terug). Axamit en Kyuzo Tsuda[1]) deden absorpsieproeven met normale sera, die ze achtereenvolgens digereerden met dichte suspensies van bacillus subtilus en bacillus dysenteriae, en zagen daarbij dat de emulsie van den bacillus subtilis ook de dysenterieopsonine bijna geheel wegnam, en omgekeerd; uit hun proeven besluiten zij, dat normaalopsonine grootendeels niet specifiek is. Daartegenover staat hun bevinding, dat dieren, die van nature immuun of kunstmatig geïmmuniseerd zijn, streng specifieke opsoninen hebben, die alleen door een zeer specifieke absorpsie zijn te verwijderen. Hun conclusie volgt uit deze bevindingen. Levaditi[2]), die steeds veel voelde voor de stelling dat opsonine en complement dezelfde stof zijn, ging bij zijn proeven uit van het door Wilde[3]) en Sachs gevonden feit, dat dichte bacteriën-emulsies in staat zijn het serum te berooven van zijn complement, welke absorpsie na-

1) Wien klin. Woch. 1907 p. 1045.
2) Ann. Soc. Biol. T. 62 p. 683.
3) c. f. Tassarevitch, Ann. de l'Inst. Past. 1902 p. 127. Berl. klin. Woch. 1901 p. 878.

tuurlijk een niet specifieke is. Het gelukte hem nu met dichte emulsies van b. typhi, staphylococcus en b. dysenteriae aan normaal serum de completeerende en opsonische werking te ontnemen.

Levaditi en Inmann merken dan ook op: „Le pouvoir opsonisant des sérums neufs est du á l'intervention du complément, et dans une faible mesure à celle de l'ambocepteur normal contenu dans ces sérums", en ze voegen er het volgende aan toe: „Or, comme le complément ne circule pas librement dans le plasma, il est à supposer que ces propriétés opsonisantes ne jouent pas un rôle actif dans le processus de l'immunité naturelle". Gingen zij nu op dezelfde wijze bij immuunsera te werk, dan moesten ze tot de conclusie komen, dat daarbij de absorpsie hoogst specifiek is, zoodat zij geheel tegen Wright c.s. in, de meening zijn toegedaan dat: „Les propriétés opsoniques des sérums spécifiques diffèrent de celles des sérums neufs, lesquelles sont liées à la présence du complément".

Met deze resultaten en conclusies staan ze niet alleen. Muir en Martin[1]) hebben zeer duidelijk het verschil in de absorpsie van immuun- en normaalopsoninen vastgesteld. Zij vergeleken de absorbeerende kracht, die dichte emulsies van verschillende bacteriën hadden op immuun- en normaal serum en deden dan een phagocytose-proef met staphylococcen. De uitkomsten zijn te welsprekend om niet mede te deelen.

1	Normaal serum niet behandeld	. . . . .	I = 38
2	met staphyloc.	„	I = 0.02
3	met b. coli commune	„	I = 3,3
4	met vibrio Metchnikoff	„	I = 4,11
5	met tuberkelbacillen	„	I = 2,6
6	met b. pyocyaneus	„	I = 3,4

[1]) Proc. Roy. Soc. Vol. 79 1907 p. 192.

1	staphylocokken-immuunserum verhit op 55° C. gedurende 1 uur; onbehandeld	I =	7,8
2	Na behandeling met staph.	I =	0,36
3	„ „ „ b. coli commune	I =	8,8
4	„ „ „ vibr. Metchn.	I =	7,5
5	„ „ „ tuberkelbacillen	I =	7,9
6	„ „ „ b. pyocyan.	I =	6,7

Wie deze tabellen goed bekijkt, leest duidelijk, hoe in het eerste geval de emulsies van de meest verschillende bacteriën telkens de opsonische werking van serum voor staphylocokken verwoest hebben, terwijl zij op de thermostabiele opsonine van het immuunserum niet den minsten invloed hebben gehad. Mooi zien wij ook in de tabel, hoe de staphylocokken-emulsie het meeste effect heeft, daar die naast de niet-specifieke thermolabiele normaal-opsonine uit normaal- en immuunserum ook de thermostabiele opsonine absorbeert. Begrijpelijk is dan ook, dat tusschen hun conclusie en die van Levaditi en Inmann geen verschil is.

Maar er is meer. Bulloch en Atkin hadden ook beweerd, dat de temperatuur zonder invloed was op de absorpsie der opsoninen, en dat deze stof zich geheel bij 0° liet absorbeeren, zoodat zij haar door die eigenschap van het complement meenden te mogen differentieeren. Wij moeten dus wat nader ingaan op de vraag: fixeert de opsonine als zoodanig zich bij 0° op antigeen? Met de oplossing hiervan hebben zich weer Fornet en Porter[1]) beziggehouden. Ze vonden, dat de bac. typhi en de bac. tuberculosis uit versch normaal serum bij 0° geen werkzaam opsonine absorbeeren, maar dat niettemin het aldus behandelde serum geen opsonische werkzaamheid meer heeft. Een paradoxaal

1) Centr. f. Bact. Abt. 1 Orig. Bd. 51 H. 2 p. 138 en Centr. f. Bact. Beil. z. Abt. I Bd. 44 Ref. p. 25. Zie ook Meyer in Berl. klin. Woch. 1908 No. 20 p. 951.

verschijnsel dus. Ze zien hierin een ernstigen grond tegen de identiteit van opsonine en complement en voegen verder de opmerking toe, dat hun uitkomsten geheel overeenstemmen met die van Bulloch en Atkin. Maar ik wil opmerken, dat in hun proef de bij 0° met serum gedigereerde bacteriën niet vatbaar waren voor opsonisatie, terwijl Bulloch en Atkin met onder dezelfde omstandigheden behandelde microben (B' in de tabel) een hoogen phagocytairen index krijgen (26.5) tegenover een zeer lagen van het serum (2.5)[1]). Maar overeenstemmend is, dat in beide proevenreeksen het serum zijn phagocytose-bevorderenden invloed heeft verloren. Fornet en Porter nu meenden, dat door de afkoeling van het serum gedeeltelijk het verlies van opsonisch vermogen was te verklaren, en bij contrôle-experimenten met normale sera namen ze een verlies van 29% waar, wat gemakkelijk is te verklaren door de behandeling, die bestond in afkoeling tot 0° gedurende $^1/_2$ uur, dan urenlang verblijf in kamertemperatuur terwijl andere sera daarna urenlang op 37° verwarmd worden. Zij gelooven echter, dat het opsonine-verlies door een zoo losse fixatie op de bacteriën is te verklaren, dat door centrifugeeren en wasschen bij die lage temperatuur de binding weer uiteenvalt; ze voegen eraan toe, dat het sommigen zelfs gelukte de bij 37° gefixeerde opsonine door centrifugeeren en wasschen voor een gedeelte te verwijderen. Werkelijk zijn hier voorbeelden van bekend[2]). Cowie en Chapin[3]) hebben dezelfde proeven als Fornet en Porter gedaan en komen tot een gelijkluidend resultaat. Maar hun verklaring is

[1]) c. f. Tabel op pag. 29.

[2]) Sellards o. a. heeft dit beschreven, zie ref. in Berl. klin. Woch. 1909 p. 68.

[3]) Journ. med. Res. vol. 17 1907 p. 57.

geheel anders en mijns inziens de juiste, n.l. dat de complete opsonine zich bij de absorpsie bij 0° geheel gedragen heeft als de complete lysine, zoodat alleen de fixateur is gebonden geworden[1]), en de cytase in het serum achter gebleven. En ter versterking van deze opvatting voer ik aan, dat Hata vond, dat versch serum bij 0° met bacteriën-emulsie behandeld weliswaar opsonisch onwerkzaam was geworden, maar dat het uitstekend kon gebruikt worden, om bij 0° met serum behandelde bacteriën, die op zich zelf niet phagocytabel waren voor de phagocytose geschikt te maken. Zit in dit feit niet een treffende overeenkomst met de complexe lysinewerking? Dat nu toch Bulloch en Atkin hun bij 0° behandelde kokken aan de phagocytose ten offer zagen vallen, is te verklaren: 1° doordien bij 0° bij uitzondering een complement-fixatie kan plaats hebben, zooals door Neufeld en Händel is aangetoond en medegedeeld[2]) en 2° doordien volgens mijn vaste overtuiging voor sommige bacteriën (afhankelijk van de soort en de virulentie) een ambocepter-fixatie voldoende is om ze phagocytabel te maken. Hannema deelt deze meening ook. Hata[3]) controleerde de experimenten van Cowie en Chapin, kreeg geheel dezelfde uitkomsten en geeft ook aan de hand van zijn methode een zeer rationeele verklaring van het zoo verschillend uitvallen van de absorpsieprocessen in het algemeen. De meeste auteurs laten deze proeven verloopen bij kamer- of zelfs bij bloedtemperatuur en daardoor is à priori te verwachten, dat zich complement aan de bacteriën bindt en het aldus behandelde serum beroofd wordt van zijn opsonisch complement, en dus tegenover andere bacteriën een groot

1) Dit is ook de conclusie van Meyer. (Berl. Klin. Woch. 1908 p. 954).
2) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte. Bd. 38 H. 2 p. 523.
3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 61 1908 p. 81.

gedeelte van zijn werkzaamheid verliest. Serum, dat behandeld wordt bij 37° met dichte staphylocokken-emulsies, wordt opsonisch en haemolytisch onwerkzaam. Om de opsonische werkzaamheid te controleeren nam hij tuberkelbacillen. Zijn de gebruikte emulsies dun, dan is er van een geheele opheffing van opsonisch vermogen geen sprake, en overeenkomstig daarmede is de completeerende kracht van het serum ook maar relatief verminderd. Herhaalde hij echter dezelfde proeven in de koude, dan kreeg hij geheel andere uitkomsten. Door de behandeling met dichte staphylocokken-emulsies ging tegenover deze de index zeer in de laagte, maar tegenover tuberkelbacillen was geen verminderde phagocytaire werkzaamheid te constateeren; behandelde hij onder gelijke omstandigheden met tuberkelbacillen, dan gebeurde precies het omgekeerde. Daaruit volgt onmiddelijk, dat bij lage temperatuur alleen de specifieke amboceptor zich op de bacillen fixeert, bij hoogere temperatuur wordt ook de andere component gebonden. Met deze nauwkeurigheid uitgewerkt en van contrôle voorzien meen ik, dat de absorpsieproeven in plaats van aan Wright c.s. een steun te zijn voor hun inzichten, wat betreft den bouw van de opsoninen, voor hun tegenstanders een machtig wapen worden. Zelfs Fornet en Porter, die ook de autonomie verdedigen van de opsoninen als antilichamen, erkennen in hun laatste publicatie, dat de opsonische serumwerking, zooals door de behandeling met bacteriën blijkt, te verdeelen is in een sensibilisatie- en een bindingsphase[1]). Recapituleeren wij dus nog eens, dan vinden wij, dat de absorpsie van normaalopsonine grootendeels niet specifiek is, die van immuunopsonine daarentegen wèl; bij lage temperatuur

[1]) l. c. p. 167.

wordt slechts een gedeelte van de opsoninen gebonden, de andere component blijft in het serum achter. De laatste beantwoordt aan de cytase van de lysine, de eerste komt overeen met den fixateur. Mij dunkt dat na al het voorgaande al meer en meer onbetwistbaar wordt de stelling: *het lytische en het opsonische vermogen zijn 2 functiën van een en hetzelfde lichaam.* En deze conclusie komt dan ook overeen met die van de meeste auteurs. Volgens dit inzicht heeft men getracht door een nadere studie van de opsoniseering de samenwerking van den fixateur en de cytase in dit proces te bewijzen.

Men heeft geprobeerd serum, dat door verhitting van zijn opsonische werking was beroofd, met normaal serum te reactiveeren. Die proeven zijn verschillend uitgevallen, maar er zijn toch zóóveel positieve resultaten, dat de meeste auteurs de complexe werking van de opsoninen absoluut bewezen achten (von Gruber, Sleeswijk, Neufeld, Rosenthal, Cowie, Chapin, Muir, Martin). Anderen, zooals Fornet, meenen dat het bewijs nog niet gebracht is. Nu moet in 't algemeen gezegd worden, dat het bizonder moeilijk is, tot een juiste appreciatie van de verschillende experimenten op dit gebied te komen, speciaal waar het geldt de waarde van onderling afwijkende resultaten hun juiste recht te doen wedervaren. Zoo ooit, dan zou om verschillende redenen juist hier een gebruik van zoo mogelijk hetzelfde materiaal en dezelfde inrichting van de proeven gewenscht zijn. Ik bedoël hiermede het volgende: de drie factoren, waaruit het proces der phagocytose is samengesteld, zijn bij de verschillende proeven te weinig overeenstemmend. Het is voor de leucocyten volstrekt niet onverschillig, in welke serumverdunning ze werken, en de onderlinge verhouding van geïnactiveerd en actief serum is een niet te

verwaarloozen moment, evenmin als de herkomst van de leucocyten ten opzichte van het serum. Dit laatste b.v. zien wij zoo dikwijls. Bekend is toch, dat vreemde sera toxische werking op leucocyten van een andere soort kunnen uitoefenen. Zoo vond Böhme[1]), dat geconcentreerd konijnen- en hondenserum menschelijke leucocyten zóó beschadigden, dat geen phagocytose optrad, terwijl bacteriën, in dezelfde sera als milieu, bij gebruik van de soorteigen leucocyten zeer goed opgegeten werden. Verdunning en verhitting (vorming van antiopsoninen (Fornet)) van serum zijn bewerkingen, die de vloeistof waarin de leucocyten gewoon zijn te werken, aanzienlijk veranderen en het experiment in vitro veel doen verschillen met wat in vivo gebeurt. Zoo gemakkelijk als dus het aantoonen van reactiveering is bij een eenvoudig proces als de haemolyse, zoo moeilijk is het om bij de phagocytose de gelijke werking te analyseeren, en in zeer uiteenloopende experimenten overeenstemmende en constante resultaten te krijgen.

Verder is het mijn overtuiging, dat vooral ook de soort en de virulentie van de gebruikte bacteriën van groot gewicht zijn. Later bij het bespreken van de spontane phagocytose kom ik op dit punt terug, maar nu reeds vermeld ik, dat ook in qualitatieven zin de opsoninen-fixatie afhangt van de eigenschappen van de bacteriënsoort. A priori is niet onwaarschijnlijk, dat de opsonische werking quantitatief maar ook qualitatief kan verschillen, afhankelijk van de bacteriesoort, zoo, dat b.v. voor sommige soorten een amboceptorfixatie voldoende is om goede opsonisatie te krijgen, terwijl in andere gevallen alleen de combinatie van de twee componenten in staat is om een optimaal effect te

---

1) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 96 1909 p. 173.

geven. Hoe het zij, wij kunnen eenige proeven vermelden, die duidelijk in staat zijn ons zeer sterk te doen voelen voor een gelukte reactiveering. In de eerste plaats de proeven van Cowie en Chapin[1]), naar aanleiding waarvan Rosenthal[2]) opmerkt, dat de completeering bewezen is.[3]) Cowie en Chapin werkten met normaal serum, en nu gaat m. i. Rosenthal te ver, waar hij beweert, dat bij immuunserum de completeering minder goed gelukt, omdat immuunsopsonine een antilichaam „sui generis" is, een enkelvoudig lichaam, dus receptor van de 2de orde in den zin van Ehrlich evenals agglutinine en praecipitine. Want van een reactiveering van een immuunserum geeft Lütke[4]) een zeer geslaagd voorbeeld: Experimenteerend met verwarmd serum van typhus-reconvalescenten zag hij eenigen opsonischen invloed, maar deze was minder dan van onverwarmd immuunserum. Door toevoeging van actief normaal serum gelukte het hem de verminderde phagocytaire werkzaamheid te herstellen. Van gelukte reactiveeringsexperimenten spreekt ook Reiter[5]). Hij verwarmde normaal caviaserum 10 min. op 60° en trachtte te reactiveeren met onverdund en $^1/_{10}$ verdund caviaserum. Soms zag hij, dat het verhitte serum een remmenden invloed op de opsonische werkzaamheid van het onver-

---

1) Journ. of med. Research. 1907 p. 57.
2) Deutsche Klinik, 1909. Bd. XII Erg. Bd. I p. 67.
3) Ik geef hier eenige van hunne cijfers:

Phagocyt. index v. onverhit serum .	=	19,26;	16,92;	11,70; 23,42.
„ „ „ verhit „ .	=	3,38;	0,96;	0,28; 0,40.
„ „ „ verdund onverhit serum . .	=	8,72;	7,24;	4,22; 6,28.
„ „ „ verhit + verdund onverhit serum .	=	21,76;	11,32;	11,16; 16,72.

4) Münch. med. Woch. 1908 No. 28.
5) Berl. klin. Woch. 1909 p. 1768.

dunde caviaserum uitoefende; reactiveerde hij met $^1/_{10}$ verdund caviaserum, dan vond hij steeds hoogere indices, dan de beide sera onvermengd gaven. Dit is toch zeker wel als een positief resultaat te beschouwen; zelfs ondanks de grootere serumverdunning is de phagocytose intensiever.

Fornet en Porter[1]) hebben op de reactiveeringsproeven in 't algemeen en op die van Cowie en Chapin in 't bijzonder kritiek geleverd door te zeggen, dat daarom van een werkelijk gelukte reactiveering geen sprake kan zijn, omdat bijna nooit door de combinatie: verhit serum + verdund normaal serum, de index van het versche normaalserum wordt bereikt.

Ze voegen hieraan toe, dat men uit het feit, dat de index van de combinatie grooter is dan de som van de indices der beide factoren (verhit serum en verdund normaalserum) nog niet tot een gelukte reactiveering mag besluiten, omdat bij veranderde serumconcentratie de opsonische index niet proportioneel toe- en afneemt.

Toch meen ik, dat men aan deze proeven niet dezelfde eischen kan stellen, als aan hetzelfde verschijnsel bij de haemolyse. Men werkt hier weer met leucocyten, die gevoelig zijn voor de veranderingen van het milieu; wanneer bijvoorbeeld in deze proeven het verhitte serum (dat den amboceptor moet leveren) en het verdunde normaalserum (complement) afkomstig zijn van verschillende individuën of van individuën van verschillende soort, kan de combinatie van de twee op de werkzaamheid der witte bloedlichaampjes van invloed zijn. Ook kan men zeggen dat leucocyten in een mengsel van verhit serum en verdund normaal serum zeker

---

[1]) Centralbl. f. Bact. Beil. Abt. I Band 44 Ref. p. 26 en Centralbl. f. Bact. Abt. I Bd. 48 Orig. p. 461.

niet dezelfde activiteit zullen ontwikkelen, als in onverdund en onverhit versch serum.

Zij zelf deelden later mede, dat in geïnactiveerd serum het optreden van antiopsoninen een belemmerenden invloed kan hebben op de opsoniseering; verder vind ik, dat, indien zij onweerlegbaar hadden willen bewijzen, dat bij dit proces reactiveering onmogelijk is, zij ook verschillende amboceptor-verdunningen en emulsies van verschillende sterkte hadden moeten gebruiken. Evenals er voor de haemolyseproeven een optimale antigeenverdunning is, zal er ook hier wel een verdunning zijn, die juist geen vrijen fixateur meer in de vloeistof laat, welke vrije cytase zou kunnen binden[1]).

Veel sprekender lijkt het mij daarom de cijfers te vermelden van een zeer geslaagde reactiveeringproef van Neufeld en Bickel[2]), die daarom des te overtuigender is, omdat amboceptor en complement verdunningen werden aangewend, die op zichzelf te zwak waren om opsonische werking te geven. (Zie tabel p. 42.)

Deze cijfers zijn zoo duidelijk sprekend, dat wij hiermede de reactiveering wel bewezen mogen achten. Het voordeel van grootere verdunningen blijkt uit de proef en zal waarschijnlijk hier aan toe te schrijven zijn, dat de belemmerende werking van de antiopsoninen tot een minimum wordt gereduceerd, en verder, dat geen vrije amboceptor de completeering belemmert.

Ten slotte wil ik de experimenten van Rosenthal[3]) vermelden, die op zeer nauwkeurige wijze de opsonin-

---

1) „Die Komplettierungsversuche können natürlich nur *bei einem bestimmten Mengenverhältnis van Ambozeptor und Komplement* in dem komplettierenden Serum ein positieves Resultat ergeben". (Neufeld in Centralbl. f. Bact. Beil. z. Abt. I Bd. 44 Ref. p. 36.).

2) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte, Bd. 27 H. 2 p. 310.

3) Centralbl. f. Bact. Beil. z. Abt. I Bd. 44 Ref. p. 16 en 17.

Immuunserum verwarmd.	Complement.	Phagocytose.	
		Na ½ uur.	Na 1½ uur.
0,001 cM³. serum verwarmd	0	gering.	gering.
0,0003 „ „ „	0	0	gering.
0,0001 „ „ „	0	0	0
0,0001 „ „ „	0,01		
0,0001 „ „ „	0,02		
0,0001 „ „ „	0,04	Sterke Phagocytose.	
0,0001 „ „ „	0,06		
0,0001 „ „ „	0,08		
0 „ „ „	0,01		
0 „ „ „	0,02		
0 „ „ „	0,04	Geen Phagocytose.	
0 „ „ „	0,06		
0 „ „ „	0,08		

werking analyseerde door de werking van amboceptor en complement afzonderlijk en bij hun samenwerking na verschillend lang contact met de bacteriën te vergelijken. Hij ging aldus te werk: in een eerste proevenreeks gebruikte hij kokken, die gedurende verschillenden tijd met verwarmd immuunserum bij 0° behandeld waren en dan aan de phagocytose onderworpen werden in keukenzoutoplossing; na aanraking van bacteriën en serum gedurende één, vijf, en twintig min. was de index resp. 3,1; 6,3; 9,4.

2. In de 2de serie werden de als boven behandelde kokken gebruikt en de keukenzoutoplossing vervangen door 15 maal verdund onverwarmd normaal menschenserum. Nu trad completeering op, en het maximum van de werking werd bijna onmiddellijk bereikt; na één minuut was de index 11,9 (gemiddeld uit 5 proeven), na 20 min. 12,7.

3. In de 3de serie werden de kokken verschillenden tijd met verdund versch normaal serum bij 37° samengebracht (dus met complement + een weinig amboceptor) en dan leucocyten toegevoegd. Resultaat: het verdunde serum opsoniseert des te meer, hoe langer het inwerkt.

4. In de 4de serie eindelijk werden de kokken eerst met amboceptoren verzadigd (digestie bij kamertemperatuur), dan verschillenden tijd met complement behandeld en dan weer voor de phagocytose-proef gebruikt. Ook hier vond hij evenals sub 2 dat de completeering van de gesensibiliseerde microben bijna onmiddelijk bereikt is.

Rosenthal vond ook de completeering het beste aantoonbaar, als hij de leucocyten kort liet vreten. En evenals Fornet en Porter zag hij, dat bij langere inwerking van het verwarmde serum het complement niet een vermeerderde phagocytose gaf, maar integendeel een antiopsonische werking te constateeren viel, die zich tegen de normale thermolabiele opsoninen richt.

Ik geloof, dat ik na het meegedeelde het bewijs wel geleverd heb, dat de lysine behalve de reeds algemeen bekende functie, ook een opsonische werking heeft; met dien verstande echter, dat de verschillende componenten op zich zelf eveneens opsonische kracht bezitten. Ook Hannema heeft aan den fixateur als zoodanig opsonische werking toegekend, ja hij is van meening, dat de fixateur alleen de bacteriën prepareert voor de phagocytose. Sleeswijk daarentegen gelooft, dat alleen de vereeniging ambo-complement opsonische werking kan ontwikkelen, en in die gevallen, waarin het met fixateur beladen antigeen zeer snel en gemakkelijk wordt opgenomen, neemt hij aan, dat tijdens de digestie de leucocyten cytase hebben afgescheiden [1]).

---

[1]) l. c. p. 112.

Maar hiertegen wil ik de tegenwerping maken, dat zulks niet is aangetoond.

Buchner was wel deze meening toegedaan, maar de school van Metchnikoff heeft zich steeds tegen die opvatting verzet. In levend plasma is geen cytase aan te toonen (Gengou)[1]) terwijl Bordet[2]) bewees, dat, waar het gelukte leucocyten zonder ze te beschadigen van het plasma te scheiden, (b.v. door passieve oedemen op te wekken) dit laatste altijd vrij is van cytase, die alleen optreedt, waar de leucocyten beschadigd worden (b. v. bij stolling van bloed). Beroemd blijft steeds de proef van Metchnikoff tegen de bacteriolyse van Pfeiffer, waarin hij door voorbehandeling van de proefdieren de phagolysis verhinderde en dan de gesensibiliseerde bacteriën snel aan de leucocyten ten prooi zag vallen, zonder een spoor van bacteriolyse in de vloeistof. Ook van Duitsche zijde zijn thans de inzichten van Metchnikoff bevestigd. Bail[3]) vermeldt naar aanleiding van zijn studies over cholera- en typhus-immuniteit, dat hij evenals Bordet vroeger, na intraveneuze injectie van bacillen geen bacteriolyse zag, maar alleen phagocytose. Hadden de leucocyten vrije cytase in het plasma gesecerneerd, dan had hij toch zeker daarvan het effect moeten zien. En in verband met hetgeen Hoke[4]) e. a. gevonden hadden, dat orgaancellen in vitro door complement absorpsie de lysis belemmeren, vraagt hij zich dan ook af, of in vivo de bacteriolyse niet een zeer ondergeschikte rol speelt, en of niet het dierexperiment ons leert, dat aan de phagocytose de eerste rol moet toegekend worden. Misschien verschilt de opsonische werking in vivo juist daarin

---

1) Ann. de l'Inst. Past. 1901 p. 68.
2) Ann. de l'Inst. Past. 1897 p. 462.
3) Arch. f. Hyg. 1905 Bd. 25 p. 272.
4) Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 34 p. 692.

met die in vitro, dat hoofdzakelijk fixateur de bacteriën prepareert voor de phagocytose. Ik denk hierbij ook aan de experimenten van Tassarevitch[1]) en Savtchenko[2]).

Ik meldde al, hoe beiden reeds vóór Wright den phagocytose-bevorderenden invloed van den fixateur hadden waargenomen. Wanneer zij in de buikholte van cavia's, die volgens het voorschrift van Metchnikoff waren voorbehandeld om de phagolyse te voorkomen, met fixateur beladen roode bloedlichaampjes inspoten, dan zagen zij deze ongeloofelijk snel in de leucocyten verdwijnen, terwijl bij de cavia's, die niet-gesensibiliseerde bloedlichaampjes kregen, de phagocytose zeer traag was of ontbrak. Zelf heb ik die proeven nagedaan; het is zeer moeilijk om aan alle eischen te voldoen, met name om phagolyse te voorkomen, en alle andere oorzaken (b.v. bloedingen) buiten te sluiten, waardoor cytase in het peritoneaalvocht kan optreden. Tweemaal is het experiment mij goed gelukt, en zag ik bij 't geïmmuniseerde dier een snelle phagocytose zonder haemolyse, terwijl bij de normale cavia de leucocyten nagenoeg werkeloos bleven. Reeds na een kwartier zijn de polynucleaire cellen en ook de macrophagen[3]) volgepropt, maar de opgenomen bloedcellen (ik gebruikte gewasschen kippenbloedlichaampjes, op welke zeer mooi het verloop van het proces kan bestudeerd worden) vertoonden geen spoor van haemolyse. Verricht men een dag of twee later weer een punctie in de buikholte, dan blijkt, dat een groot aantal mononucleaire cellen zijn toegestroomd, die de met roode

---

1) Ann. de l'Inst. Past. 1902 p. 127.

2) Ann. de l'Inst. Past. 1902 p. 106.

3) Ik verwijs naar de mooie platen in Journ. of med. Res. 1907 p. 264, gevoegd bij een artikel van Buxton, over de opname van erythrocyten in de peritoneaalholte.

bloedlichaampjes volgepropte polynucleaire cellen (die misschien vergiftigd zijn) op hun beurt verslinden. In die polynucleairen herkent men nog duidelijk de kippenbloedlichaampjes; deze zijn wel geschrompeld, in enkele zijn de kernen opgelost en opgezwollen, in andere hebben pycnotische kernveranderingen plaats gehad, maar bij het meerendeel is het stroma intact, en kleurt zich nog duidelijk met eosine. Haemolyse is er dus niet geweest; noch intracellulair noch extracellulair is het tot een cytasewerking gekomen. Het is zelfs de vraag of wel ooit het intracellulaire verteringsproces als een amboceptor-complement-werking is op te vatten. Metchnikoff en zijn school hebben deze vragen altijd bevestigend beantwoord, steunend op de veranderingen, die zij zagen bij de intra-cellulaire granulavorming van opgenomen choleravibrionen; van Duitschen kant is over dit punt dikwijls anders geoordeeld. Zoo zagen Neufeld en Hühne [1]) in phagocytoseproeven met choleravibrionen en verwarmd immuunserum soms granulavorming in de cellen en bij toevoeging van complement ook daar buiten, maar volgens hen verschilt de intracellulaire van de extracellulaire door grooter variatie van den vorm en gemakkelijker kleurbaarheid van de korrels, alsmede door het optreden van kleinere korreltjes, die door een bijzonder sterke kleurbaarheid opvallen, terwijl in 't algemeen het verval van de bacillen in tegenstelling met de snelle Pfeiffer'sche verkorreling veel langzamer

---

1) Arb. a. d. Kais. Ges. amte. Bd. 25 H. 1 p. 182 en 183. Lambotte en Stiennon (Centralbl. f. Bact. Bd. 50 Orig. p. 224 en 393) zagen leucocyten in physiologische zoutsolutie gretig cholerabacillen opnemen; deze phagocytose werd zeer versterkt, wanneer de bacillen te voren waren gesensibiliseerd met verhit immuunserum; de opgenomen bacillen werden echter intracellulair dan alleen in korreltjes veranderd, wanneer zij versch normaal serum (cytase) toevoegden.

gaat. Zij verklaren dit alles door aan te nemen, dat in de levende leucocyten niet dezelfde cytase werkt of in anderen vorm optreedt dan in het exsudaat, waar de cytase een product is van afstervende cellen. Opgelost is deze quaestie zeker niet. Wij behoeven daarom niet te ontkennen, dat de cytase een product is van de leucocyten; alles wijst met groote waarschijnlijkheid erop, dat zulks wel degelijk het geval is, maar het is de vraag of de levende leucocyten cytase als zoodanig bevatten, dan wel als een proferment, dat alleen bij beschadiging van de phagocyten als cytase kan diffundeeren. Bij gebrek aan overtuigend bewijsmateriaal is het onmogelijk deze quaestie uit te maken, maar ik meen te mogen beweren, dat de feiten, die wij zien bij de phagocytose van bloedlichaampjes een sterke aanwijzing zijn ten gunste van de stelling, dat in vivo de amboceptor-fixatie het doorslaggevende moment is, dat bacteriën en ander antigeen voorbereidt voor de phagocytose, en dat ook in vitro niet uitsluitend de combinatie ambo-complement de opsonisatie bewerkt. Maar bij onze experimenten in vitro, misschien ook in vivo, mogen wij de opsonische werking van de cytase niet ontkennen, en ik geloof, dat Hannema die ten onrechte geheel buitensluit. Bij de bespreking van de tropinen van Neufeld zal deze vraag over de zelfstandige werking der fixateurs nog wel aan de orde komen. Neufeld en Rimpau nemen een eenigszins afzonderlijk standpunt in. Zonder den opsonischen invloed van amboceptor en complement te ontkennen (ofschoon Neufeld het voorzichtiger vindt te spreken van een lytischen en van een opsonischen amboceptor resp. complement[1]) meenen zij toch te mogen aannemen, dat naast de complete opso-

1) Zie o. a. Centralbl. f. Bact. Beil. z. Abt. I Bd. 44 Ref. p. 36.

nine in immuunsera een thermostabiele tropine aanwezig is, die zich zonder hulp van complement op het antigeen hecht. Hun eerste proeven werden gedaan met strepto- en pneumocokken-sera en sinds dien tijd heeft Neufeld[1]) in vereeniging met Bickel[2]) en Hühne[3]) met typhus- en paratyphus-sera geëxperimenteerd, waarbij hij zijn eerste inzichten bevestigd meent te hebben, en tevens vond, dat ook bij de immuniteit tegen roode bloedlichaampjes z.g. cyto- of haemotropinen een groote rol spelen. Het heeft hun echter aan kritiek niet ontbroken. Wright heeft in een discussie met Neufeld beweerd, dat de tropinen geheel met de door hem gevonden opsoninen identiek zijn, en onder de latere onderzoekers zijn het vooral Bezzola[4]), Savtchenko[5]) en Bogomolez[6]), die tot de overtuiging kwamen, dat haemotropinen en haemolysinen identiek zijn. Neufeld blijft echter aan het autonomisme van zijn tropinen op de volgende gronden vasthouden.

1°. Er zijn sera, die geen lytische kracht, maar daarentegen een duidelijke bacterio- resp. cytotrope werking hebben. 2°. Waar beide eigenschappen aanwezig zijn, gaan ze dikwijls niet parallel. 3°. Het is gelukt, de tropinen te scheiden van de lysinen. Ad 1°. en 2°. wil ik opmerken, dat de lysis resp. de bacteriotropie een phenomeen is, veroorzaakt door de wisselwerking van 2 factoren: een specifieke antistof en de microben; de aanwezigheid van de eerste is een conditio sine qua non, maar de aanwezigheid en ook de individualiteit van de bacteriën zijn minstens even belangrijk.

---

1) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte Bd. 33 H. 3 p. 480.
2) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte Bd. 27 H. 2 p. 310.
3) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte Bd. 25 H. 1 p. 164.
4) Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 50 p. 522.
5) Arch. Soc. Biol. Inst. impér. de méd. de St. Petersbourg. Tome XV No. 2 p. 145.
6) Centralbl. f. Bact. Bd. 43 Ref. p. 288.

En wij weten hoe bij uitstek veranderlijk de eigenschappen der bacteriën zijn, en speciaal in hun gedrag tegenover de antistoffen. Het is b.v. bekend, dat versch uit het bloed van typhuslijders gekweekte bacillen weerstand kunnen bieden aan de bacteriocidie en de agglutinatie[1]). Later zal ik bespreken, dat pneumocokken, die in 't algemeen zeer vatbaar zijn voor de werking der opsoninen, zóó in hun eigenschappen veranderd kunnen worden (door dierpassage b.v.), dat ze z.g. opsoninvast worden. En beschreef Metchnikoff[2]) niet sera, die een groote hoeveelheid fixateurs bleken te hebben, maar desondanks bactericiede werking misten? De afwezigheid van het verschijnsel der lysis, der agglutinatie, der bacteriocidie, der opsonisatie mag ons niet doen besluiten tot de afwezigheid van specifieke antilichamen. Het is volstrekt niet onaannemelijk, dat de bacteriëncel door haar aanpassingsvermogen zich zoo kan veranderen, dat bij haar wisselwerking met een antilichaam één of meer functies van dit laatste niet tot uiting komen[3]), en eveneens mag de afwezigheid van de lysis bij aanwezigheid van de bacteriotropie ons niet de gevolgtrekking doen maken, dat beide werkingen door verschillende antilichamen veroorzaakt worden. Van den anderen kant is ook geenszins onmogelijk dat, aannemend dat de bacteriotropie en de bacteriolysis functieuitingen kunnen zijn van éénzelfde antilichaam, (den fixateur),

---

[1]) c. f. Eisenberg in Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 45 p. 140.

[2]) Ergebn. d. Alg. Pathol. u. pathol. Anat. Jhrg. 11 1906 Abt. I.

[3]) Zoo lezen wij b.v. bij Eisenberg: in alle experimenten, waarin door chemische of thermische agentia bacteriën zoo worden veranderd, dat ze hun lysogene functie inboeten, daarbij echter hun agglutinogene behouden, moet men de mogelijkheid in het oog houden, dat hierdoor toestandveranderingen in 't leven worden geroepen, die ook op het inwerkingsgebied van het antilichaam haar invloed doen gelden (l.c. p. 646).

deze beide functies bij verschillende fixateurs niet in dezelfde mate aanwezig zijn. Dit alles is genoeg om te verklaren waarom ik niet meega in de conclusie van Neufeld, die, een paratyphus B serum aantreffend, dat een sterk bacteriotrope werking had, maar lytische kracht miste, tot de niet-identiteit van tropinen en lysinen besluit. Het is wel merkwaardig, dat Bezzola[1]), die verschillende dergelijke sera onderzocht, steeds beide eigenschappen parallel zag gaan; hij noemt het paratyphus B serum het type van een lytisch serum. Kutcher en Meinicke[2]) vonden hetzelfde als Bezzola.

Het uitéénloopen van den bacteriotropen en bacteriolytischen titer zag Neufeld vooral bij typhussera. Hij bepaalde den eersten door vast te stellen, bij welke verdunning van het serum nog een duidelijke phagocytose plaats had vergeleken met een contrôle in zoutsolutie; voor het vinden van den bacteriolytischen titer gebruikte hij plaatcultures.

Behalve uit bovenstaande algemeene overwegingen geloof ik ook, dat aan de experimenten fouten kleven, die het onmogelijk maken de conclusie van Neufeld zonder meer te aanvaarden. De contrôle met de plaatcultures is een zeer grove. Niet alleen de bacteriociede, maar ook de agglutineerende kracht doet zich gelden op de bacteriën (en zeker bij Neufeld, die typhusbacillen gebruikte) en dit heeft ten gevolge, dat geagglutineerde bacteriën tot één cultuur uitgroeien, waar ze in geval ze niet geagglutineerd waren, elk afzonderlijk een cultuur zouden gevormd hebben. Wie de moeite neemt zijn tabellen na te zien, ziet duidelijk hoe regelloos de bacteriocidie in de verschillende verdunningen kan verloopen.

---

[1]) Centralbl. f. Bact. Abt. I Bd. 50 Orig. p. 523.
[2]) Geciteerd naar Neufeld.

Ook tegen de phagocytoseproef zijn bezwaren in te brengen. Hij verkreeg de leucocyten van kunstmatig opgewekte peritoneaalexsudaten bij cavia's; de sera waren menschen- en konijnensera. Nu weet men tegenwoordig, dat de herkomst van de verschillende factoren geenszins onverschillig is voor den afloop van het phagocytoseproces; de invloed van een heterogeen serum is geheel verschillend van dien van een isogeen serum. Savtchenko [1]) bewees dit experimenteel door aan te toonen, dat bij heterogene sera de opsoniseerende invloed niet parallel loopt aan den verdunningsgraad — hij schrijft dit toe aan de toxische werking op de witte bloedlichaampjes, en aan den invloed van de agglutininen — terwijl bij isogene sera de phagocytose bij toenemende verdunning proportioneel afneemt. Indien men met deze factoren rekening houdt, lijkt het mij onmogelijk aan te nemen, dat de experimenten van Neufeld aan alle eischen voldoen, terwijl ze zich overigens zeer slecht leenen tot vergelijking, uiteenloopend als ze zijn, wat techniek en materiaal betreft. Als een verder bezwaar vermeld ik, dat Neufeld verscheidene sera gebruikte, die waren bewaard door toevoeging van $^1/_2$ % carbol; Bezzola nu, hierin bevestigd door Fornet en Porter, toonde aan, dat door deze bewerking een serum antiopsonische eigenschappen krijgt [2]).

Neufeld herhaalde in samenwerking met Bickel [3]) met immuunsera, die tegen roode bloedlichaampjes waren gericht, zijn experimenten, en meent hiermede zijn

1) Arch. Soc. Biol. de l'Inst. impér. de médic. expérim. de St. Pétersbourg, 1910 T. XV p. 168.

2) Met oude, met carbol bewaarde normale sera kreeg hij remmenden invloed op de werking van immuunsera; immuunsera verloren op den duur door carbol hun phagocytose-bevorderenden invloed.

3) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte. Bd. 27 H. 2 p. 310.

vroegere conclusies te mogen handhaven. Bij het immuniseeren van konijnen met vreemde bloedlichaampjes vond hij, dat het op verschillende tijdstippen afgenomen bloed nu eens de lysinen miste bij aanwezigheid van tropinen of omgekeerd, dan weer een verschillenden titer voor de beide lichamen had. De bovengenoemde bezwaren hebben ook hier weer recht van bestaan, maar verder moet ik vermelden, dat Neufeld hier met zijn uitkomsten alleen staat. Savtchenko[1]) heeft steeds een tegengesteld resultaat gehad. „L'experimentum crucis, qui a convaincu Neufeld de l'existence indépendante des hémotropines et des hémolysines, est précisément l'expérience *qui m'a fait admettre la réalité du rôle des fixateurs dans la phagocytose*". In al zijn proeven bevatte het immuunserum van een konijn, dat met cavia-erythrocyten was behandeld, steeds de twee eigenschappen vereenigd: het bevatte een specifieken haemolytischen fixateur en had verder opsoniseerenden invloed. „Comme notre expérience a été répétée dans différents laboratoires, par conséquent sur différentes espèces de lapins, avec toujours le même résultat, il est évident, que l'espèce des lapins n'y est pour rien, et que la différence de résultat obtenue par Neufeld doit être imputée à quelque erreur dans l'organisation de l'expérience". Zijn conclusie is dan ook: „qu'il est impossible, avec les méthodes actuelles, de séparer les substances hémolytiques des hémotropines, et nous fait supposer, que nous avons affaire non à des substances différentes des sérums, mais seulement à des propriétés différentes de ces substances".

Om een nieuw bewijs voor de autonomie van zijn cytotropinen te brengen heeft Neufeld[2]) getracht door

---

1) Loc. cit. p. 152.

2) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte. Bd. 27 H. 2 p. 310.

bindingsproeven in de koude de haemolysine te scheiden van de haemotropine. Hij maakt gebruik van het door Sachs gevonden feit, dat bloedlichaampjes een grootere hoeveelheid amboceptor kunnen binden (geitenbloedlichaampjes b.v. tot 100 × meer), dan voor complete haemolyse noodig is. Hij bracht 10 min. in de koude bij elkaar 2 cM³. konijnenserum (20 maal verdund) en 0,1 cM³. geitenbloedemulsie (5 %), centrifugeerde snel, en deed dan met de bovenstaande heldere vloeistof een phagocytose-proef en een haemolyse-proef. Het resultaat was, dat bij 0,01 cM³. een spoor, bij 0,003 cM³. geen haemolyse aantoonbaar was, terwijl de phagocytose sterk uitviel nog bij 0,0003 cM³.; het sediment gaf zoowel sterke phagocytose als haemolyse. Op dezelfde wijze bracht hij 0,01 cM³. serum met 0,001 cM³. geitenbloedemulsie in 1 cM³. zoutsolutie 1 uur bij 37° samen, en kreeg dan „matig" sterke phagocytose en geen haemolyse. De uitspraak van Neufeld: „hier ist also eine Trennung der beide Antikörper gelungen", is m.i. onjuist, afgezien nog van het feit, dat met de toenemende verdunning de phagocytose zeer afneemt (matige phagocytose heet het in de proef; cijfers geeft Neufeld niet en nu is het schatten van den graad van phagocytose zeer subjectief). Bovendien is niet uit te maken, of en hoeveel invloed de spontaanphagocytose gehad heeft; men vergete niet, dat Neufeld de phagocytose-proeven van ½ tot 2 uur laat duren. Verder is het een bekend feit, dat voor de phagocytose een zeer veel sterkere serumverdunning voldoende is dan voor de haemolyse, en meer heeft Neufeld met zijn proeven niet aangetoond.

In een latere monographie[1]) komt Neufeld nog eens eens terug op zijn standpunt, vooral nadat gebleken

---

1) Arb. a. d. Kais. Ges. Amte Bd. 33 H. 3 p. 580.

was, dat velen de tropinen eenvoudig met de fixateurs identificeerden. Hij noemt als karakteristieke en voornaamste verschil dat de eersten enkelvoudige, de laatsten daarentegen complexe lichamen zijn; dat de fixateur als enkelvoudig lichaam zou werken, acht hij onvereenigbaar met de tegenwoordige opvatting.

Dit bezwaar heeft alleen waarde indien men de Ehrlich'sche opvatting als de eenig juiste vooropstelt, maar volgens de voorstelling van Bordet is het volstrekt niet onaannemelijk, dat de amboceptor als substance sensibilisatrice dusdanige veranderingen teweeg brengt in het bacteriënlichaam, dat dit in 't eene geval ten prooi valt aan de phagocyt, in 't andere geval bij ondergang van de leucocyt (phagolyse) gevoelig wordt voor inwerking van de daarbij vrijgekomen cytase. Deze opvatting brengt in ieder geval veel meer eenheid, vereenigt veel mooier de humorale en cellulaire immuniteitstheorie, en is voor hen, die de opvatting van de Metchnikoff'sche school huldigen, n.l. dat de lysis in vivo een uitzondering is, zeer aantrekkelijk. Ten slotte wil ik vermelden, dat de proeven van Neufeld over haemotroprinen zijn gecontroleerd geworden door Bezzola[1]), die tot de conclusie komt, dat er een volkomen parallelisme is bij immuniseering tusschen het haemolysin- en haemotropingehalte, zoodat hij niet twijfelt aan de identiteit van de beide lichamen. In alle gevallen, waar kunstmatig de haemolytische werking verminderd werd, ging ook de cytotropische kracht naar beneden. Pfeiffer en Sachs[2]) vonden, dat bacteriën resp. roode bloedlichaampjes door voorbehandeling met overmaat van immuunserum het vermogen om te immuniseeren ten deele verloren. Nu ging Bezzola

[1]) Centralbl. f. Bact. Abt. I Bd. 60 Orig. p. 522.
[2]) Geciteerd naar Bezzola.

na, wat het effect zou zijn, wanneer hij immuniseerde met roode bloedlichaampjes, die hij had voorbehandeld met een overschot van oude, met carbol bewaarde immuunsera (die hierdoor hun cytotrope eigenschappen hadden verloren, maar nog duidelijk haemolytisch waren); hier zou, volgens Neufeld, verwacht mogen worden, dat een met deze erythrocyten verkregen immuunserum arm aan lysinen, rijk aan tropinen zou zijn. Maar wat bleek? Hij kreeg een serum dat zoowel verminderde haemolysinewerking als verminderde tropinwerking had.

Ik eindig met een opmerking van Bezzola[1]), die veilig deze quaestie kan sluiten: „Jeder der auch nur wenige Phagocytenversuche angestellt hat, muss mir zustimmen, wenn ich behaupte, dasz zwischen der jeweiligen Wirkung der Leucocyten bei constanten übrigen Versuchsbedingungen oft eine grosze Verschiedenheit zu constatieren ist."

Bij de litteratuurstudie is mij opgevallen, dat bij sommige auteurs o. a. Weil[2]) een neiging bestaat om de agglutininen met de opsoninen te identificeeren. Een afdoend onderzoek heeft op dit gebied nog niet plaats gehad. Het zou wel interessant zijn te weten, in hoeverre met agglutinine beladen bacteriën gemakkelijker dan niet geagglutineerde gephagocyteerd worden. A priori zou men dit mogen verwachten; eigenaardig in ieder geval is, dat zoowel agglutinine als opsonine zich op de bacteriën hechten, en beiden het ectoplasma van het bacteriënlichaam tot aangrijpingspunt hebben. Bij de lezing van de monographieën van Wright en zijn medewerkers treft ons telkens en telkens, dat volgens hen bij de phagocytose de leucocyt een ondergeschikte rol speelt, de serumeigen-

---

1) l. c. p. 533. c. f. Bogomolez (Centralbl. f. Bact. Bd. 43 Ref. p. 288) die bij immunisatie van cavia's met ganzenbloedlichaampjes steeds den lytischen en tropischen titer parallel zag.

2) Centralbl. f. Bact. Beil. z. Abt. I Bd. 44 Ref. p. 37.

schappen daarentegen de belangrijkste zijn. In zooverre stonden zij dus dichter bij de vooral in Duitschland sterk vertegenwoordigde humorale school, die de immuniteit heeft willen verklaren door de eigenschappen der lichaamsvochten, en aan de phagocyt de werkelijk bescheiden rol van „Hyenen des Schlachtfeldes" (v. Baumgarten) toebedeelde. Juist onder invloed van Wright en Bail[1]) is men opnieuw het proces der phagocytose gaan bestudeeren en is daarbij meer en meer de groote beteekenis der leucocyten gaan inzien, vooral op grond van de gewichtige feiten, die de studie der spontaanphagocytose van alle kanten bijeengebracht. Voornamelijk in het Institut Pasteur te Parijs heeft men getracht de vraag op te lossen, in hoeverre witte bloedlichaampjes in physiologische zoutoplossing in staat zijn tot phagocytose. Een dergelijke proef bootst slechts van verre de verhoudingen in vivo na, en het is niet uit te maken, hoeveel de leucocyten in een voor haar zoo vreemde vloeistof van haar normale functie verliezen[2]). Neumann[3]) zag dat miltvuurbacillen door gewasschen leucocyten gemakkelijk werden opgenomen zonder behulp van serum, met andere microben kreeg hij nu eens positieve (zooals bij b. pyocyaneus en staphylococcus), dan weer minder goede resultaten

---

[1]) Bail was de eerste, die de waarde der bacteriën in de verklaring der immuniteit deed uitkomen, doordien hij de beteekenis der antilichamen grootendeels miskennend, aannam, dat in het organisme de strijd zich onmiddellijk tusschen lichaamscel en microbe aanbindt. De bacteriën houden door stoffen (agressinen), die direct tegen de werking der phagocyten zijn gericht, deze verre. Het lichaam wordt tegen een pathogene bacterie immuun door productie van antiagressinen. (Wien. Klin. Woch. 1906 p. 1278. Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 43 p. 641; Bd. 46 p. 488 en Berl. klin. Woch. 1907 p. 745).

[2]) Vooral Metchnikoff drukt hierop herhaaldelijk. c. f. Ergebn. der alg. Path. u. path. Anat. Jhrg. 11 Abt. 1, 1906 p. 672.

[3]) Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 44 p. 46.

(v. cholerae, b. typhi, streptococcus). Maar hoe groot de beteekenis van de leucocyten was, bleek hem uit het feit, dat zijn resultaten verschilden, wanneer hij leucocyten nam van verschillende cavia's. Dit vond ook Levaditi[1]); nam deze virulente streptocokken, serum van een konijn en konijnenleucocyten, dan bleef phagocytose geheel uit; verving hij nu de konijnenleucocyten door die van den mensch, dan trad bij 10-voudige verdunning van het serum nog flinke phagocytose op. Ook zal het een ieder opvallen, dat de spontaanphagocytose zich kenmerkt door groote regelloosheid. De phagocytaire kracht van de leucocyten van éénzelfde dier en van verschillende dieren van dezelfde soort en van dieren van verschillende soort, is zeer uiteenloopend. Door schadelijke invloeden als sterke afkoeling, vergiften enz., kan de werkzaamheid van de witte bloedlichaampjes verminderd, zelfs opgeheven worden. Cantacuzène behandelde geïmmuniseerde cavia's met morphine; spoot hij daarna een virulente cholera-cultuur in de peritoneaalholte, dan zag hij de dieren, die in normalen toestand een meervoud van de gegeven dosis verdroegen, spoedig sterven. De phagocyten bewogen zich traag en verrichtten hun werkzaamheid onvolkomen, de emigratie was zeer verlangzaamd. Kortom, de als 't ware bedwelmde cellen waren niet tot krachtig optreden in staat om de dieren tegen een doodelijke infectie te beschermen.

Hetzelfde is ook meermalen geconstateerd, als de proefdieren door verhitten, afkoelen of vermoeienis in minderwaardigen toestand waren gebracht (Vincent[2])).

Een dergelijk verschijnsel zag Marmoreck[3]), wien het gelukte witte muizen, die zeer refractair zijn tegen tuber-

1) Ann. Soc. Biol. T. 62 1907 p. 870.
2) Ann. de l'Inst. Past. 1904 p. 450.
3) Berl. klin. Woch. 1906 p. 328.

culose, aan deze ziekte te doen bezwijken, wanneer hij de tuberkelbacillen, waarmede hij de dieren inspoot, suspendeerde in een 2½ % chinine-oplossing, (die de phagocyten verlamt.)

De grootste verdienste in de studie der spontaanphagocytose heeft ontegenzeggelijk Löhlein[1]); geheel overeenkomstig de bevinding van Neumann[2]) zag hij, dat gewasschen leucocyten in physiologische zoutsolutie zelfs virulente miltvuurbacillen gemakkelijk opnemen: „on observe immédiatement un commencement d'englobement". Na 1 à 2 uur zijn alle bacillen gegrepen door de phagocyten. Voor staphylocokken geldt hetzelfde; bij streptocokken kwamen groote verschillen voor den dag: bij zeer virulente stammen was er na 2¾ uur nog niet de minste phagocytose, terwijl deze bij een weinig virulenten stam na 20 min. al duidelijk, na 2½ uur sterk was. Dezelfde streptococcus, die na dierpassage op de meest hardnekkige wijze ontsnapte aan de spontaanphagocytose, verloor dien weerstand, indien men hem eenige malen in bouillon overentte. Bij b. coli commune bleken eveneens groote verschillen, maar hier bestond geen parallelisme tusschen de virulentie en den weerstand tegen phagocyten. Later vond Löhlein, dat gewasschen leucocyten van voor pest gevoelige dieren ook virulente pestbacillen zonder hulp van serumwerking opnemen.

De spontaanphagocytose hangt af van de eigenschappen der phagocyten en van de soort en de virulentie van bacteriën; vandaar de uiteenloopende resultaten, die de verschillende onderzoekers verkregen. Zoo vermeldt Böhme[3]) een zeer goede spontaanphagocytose van diphteriebacillen, terwijl Tunnicliff zag, dat sommige stam-

[1]) Ann. de l'Inst. Past. 1905 p. 647.
[2]) Centralbl. f. Bact. Abt. 1 Bd. 38 Ref. p. 32.
[3]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 96 1909.

men alleen onder invloed van serum werden opgenomen. Op dezelfde manier zijn ook de verschillen van Neumann eu Löhlein te verklaren; de eerste vond bij typhusbacillen het verschijnsel niet, terwijl volgens Löhlein (bevestigd door Levaditi en Inmann[1]), indien het contact maar lang genoeg duurde, de leucocyten zonder behulp van serum deze microben wel opnamen. De laatsten kregen als index afhankelijk van den duur van het contact: na 15 min. I = 0,08, na 1 uur I = 0,26, na 2 uur I = 1,34. De invloed van den duur der proef wordt ook zeer duidelijk geïllustreerd door een waarneming van Löhlein, waarin hij de phagocytose van miltvuurbacillen in zoutsolutie vergeleek met die van microben, welke te voren gedurende 40 min. met normaal serum waren behandeld en dus met opsoninen waren gesensibiliseerd; na een half uur was de spontaanphagocytose zeer ten achter bij die van de geopsoniseerde bacillen, maar met het toenemen van den duur van het contact werd dit verschil minder en minder; na een uur was het zeer gering en na een paar uur is het onmogelijk onderscheid tusschen de preparaten te vinden.

Bij zijn onderzoek met pestbacillen vond Löhlein[2]), dat bij injectie van groote hoeveelheden in de buikholte van cavia's en ratten een tweede generatie van de microben ontstaat, die zich door grootere resistentie en ook morphologisch onderscheidt. Op het peritoneaaloppervlak en in de afvoerende lymphwegen vindt men de leucocyten beladen met bacillen, in het vocht zijn er geen of weinig. Een deel van de pestbacillen kan aan de phagocytose ontsnappen, en uit deze ontwikkelt zich een nieuwe generatie, die bij voldoende kracht

---

1) Ann. Soc. Biol. 1907 T. 62 p. 817—869.
2) Centralbl. f. Bact. Abt. I Bd. 38 Ref. p. 32.

den dood van het dier veroorzaakt. Bij wat langer levende dieren komt het nu tot een nieuwe invasie van witte bloedlichaampjes, maar de pestbacillen zijn intusschentijd veranderd; zij zijn breeder en langer geworden en hebben duidelijk kapsels gekregen. En tegenover deze generatie staan de leucocyten machteloos; de bacillen nemen voortdurend toe in aantal en brengen ten slotte het dier ten onder. Met andere woorden, evenals onder gunstige voorwaarden het organisme zich immuniseert tegen de bacteriën, evenzoo immuniseeren deze laatsten zich tegen den schadelijken invloed van het organisme. En zoo ontstaat ook bij de bacteriën die eindelooze variatie, die zich doet gelden tegenover den invloed van de leucocyten en hun producten, en die aan het proces der phagocytose zoo groote verscheidenheid geeft.

Dit door Löhlein waargenomen feit staat niet alleen; Deutsch[1]) [2]) zag reeds vroeger hetzelfde bij miltvuurbacillen, waar de overlevenden zich tegen het organisme door kapselvorming beschermden; door proeven in vitro overtuigde hij zich, dat deze bacillen weerstand boden aan de phagocytose. En dat werkelijk de kapselvorming en niet eventueel in het exsudaat overgegane bacteriegiften de oorzaak zijn van de grootere resistentie bewees Löhlein door een peritoneaal-exsudaat, waarin de bacillen kapsels hadden aangenomen te centrifugeeren. De bacillen waschte hij eenige malen met zoutsolutie; daarna deed hij in 3 verschillende buisjes *a. b.* en *c.* resp. bij elkaar *a.*: kapseldragende gewasschen bacillen, leucocyten en zoutsolutie; *b.*: niet kapseldragende bacillen van een versche agarcultuur, exsudaat-

---

[1]) Gecit. naar Löhlein l. c.

[2]) c. f. ook Stiennon in C. R. Soc. Biol. T. 62 p. 604.

vloeistof en leucocyten en *c.*: bacillen als in *b.* zoutsolutie en leucocyten. In buisje *a.* was geen spoor van phagocytose; in *b.* en *c.* overvloedige opname van bacillen.

Stiennon[1]) spoot in de buikholte van cavia's een mengsel van miltvuurbacillen met kapsel en andere indifferente microben. Hij zag nu, dat de leucocyten in hun vreetlust met de meeste selectie te werk gaan. De indifferente bacteriën nemen ze zeer gretig op, maar laten de met kapsel voorziene miltvuurbacillen onaangeroerd.

Danysz[2]) vond, dat miltvuurbacillen, die zich in vitro aanpassen aan de antiseptische werking van arsenicum, kapselvorming vertoonen.

Bordet[3]) nam waar, dat streptocokken, die aan de phagocytose weerstand bieden, een nieuwe generatie vormen, waarvan de individuen kleiner zijn, meer als diplocokken zich vertoonen, en zich met dikke kapsels omgeven; bij pneumocokken is dit laatste verschijnsel eveneens aan te toonen. Zeer virulente tetragenes (waarvan $^1/_{50000}$ m.gr. doodelijk was voor cavia's van 600 à 800 gr.) werd, volgens Horiuchi[4]), bijna niet opgenomen; door kweeken op ingedroogde agar werd hij zoo verzwakt, dat de phagocytose zeer krachtig werd, maar tegelijkertijd had de cultuur het vermogen tot kapselvorming verloren en was de virulentie zeer sterk afgenomen. Maar naast de kapselvorming, die zich zoo gemakkelijk laat bestudeeren, beschikt de bacterie zeker door giftvorming

---

1) Ann. Soc. Biol. 1907 p. 647.

2) Gecit. naar Eisenberg, Centralbl. f. Bact. Bd. 45 Orig. p. 44, 134, 638.

3) Macé, Traité pratique de Bactériologie. (Paris, Baillière & fils, 1904) p. 394 en Annal. de l'Inst. Past. 1896 p. 104.

4) Gecit. naar v. Gruber.

over een machtig wapen om de witte bloedlichaampjes verre te houden. De geheele leer van de agressinen van Bail is hiervoor een bewijs en toont tevens aan, hoe tegenwoordig aan de eigenschappen van de microben meer en meer gewicht wordt gehecht. Ook de onderzoekingen van Tschistowitch en Yourewitch [1]), die vonden dat virulente pneumocokken tegen de leucocyten gerichte giften, antiphaginen [2]) kunnen afscheiden, waardoor ze zich beveiligen tegen de opsoninwerking, bevestigen deze voorstelling.

Volgens de laatste opvattingen bestaat de bacterie uit endo- en ectoplasma, en nu neemt men aan, dat het meer gecondenseerde en lichtbrekende ectoplasma het aangrijpingspunt is van alle tot nu toe bekende serumfuncties: agglutinatie, bacteriolyse, opsonisatie. Voor de agglutinatie wordt dit algemeen aangenomen; de bacteriolyse is volgens nieuwere onderzoekingen waarschijnlijk een osmotische stoornis van de bacteriecel als gevolg van een omzetting in het ectoplasma [3]) en ook voor opsonisatie schijnt voor de hand liggend een chemische of physisch-chemische verandering hiervan als grondslag te nemen. Dan zou dus volgens Ehrlich het ectoplasma ook de oorsprongsplaats zijn van de receptoren, die zich richten tegen de bacteriolysinen, agglutininen en opsoninen. Deze opvatting is een stap nader tot de algemeen merkbare neiging de verschillende bacteriën-receptoren tot één oorspronkelijk lichaam terug te voeren. En naar analogie vraag ik mij af, of ook niet de agglutinin- opsonin- en lysinwerking verschillende functies zijn van één antilichaam, waarvan ten slotte de teleologische functie is de bacteriecel zoo te veranderen, dat ze ten

1) Ann. de l'Inst. Past. 1908 p. 611.
2) Door verschil in thermoresistentie te scheiden van de agressinen.
3) Eisenberg, l. c. p. 646.

offer valt aan de leucocyten. In het voorgaande heb ik gemeend te bewijzen, dat de opsoninen een merkwaardige overeenkomst vertoonen met de lysinen. Ik heb vermeld, hoe meer en meer wordt meegegaan met de opvatting van Metchinkoff, dat in vivo de lysis slechts een ondergeschikte rol speelt. Wel kunnen de afstervingsproducten van de eerst op het slagveld gekomen leukocyten, die onder phagolyse te gronde gaan, de bacteriën gevoelig maken tegenover de later komende witte bloedlichaampjes, die ten slotte het organisme over de infectie doen zegevieren. Voor de agglutininen is dit verband nog niet zoo duidelijk, maar op dit gebied beschikken wij nog over veel te weinig gegevens. En als wij dan nog een stap verder gaan en met de Pasteur'sche school aannemen, dat de leucocyten en de leucopoietische organen als de vormingsplaats der antistoffen moeten aangezien worden (Gengou[1]), Tassarevitch[2])), dan mogen we zeggen, dat de moderne opvatting de phagocyt weer in haar oude waardigheid heeft hersteld. Bij lezing van het groote werk van Metchnikoff „l'Immunité dans les maladies infectieuses" komt telkens en telkens de grondgedachte terug in de phagocytose de verklaring der immuniteit te vinden. Na de ontdekking der antitoxinen en van de bacteriëndoodende kracht der lichaamsvochten kwam de heftige strijd van humoraal- en cellulair-pathologen, die dikwijls op weinig objectieve wijze is gevoerd[3]), aan welke omstandigheid voor een groot deel waarschijnlijk het feit is te wijten, dat de oplossing zich zoo lang heeft laten wachten. Nadat nu in aansluiting aan hetgeen

---

1) Ann. de l'Inst. Past. 1901 p. 68.
2) Ann. de l'Inst. Past. 1902 p. 127.
3) c. f. artikel v. Metchnikoff. Phagocytose. Kolle u. Wassermann. Bd. IV T. 1 p. 332.

Denys, Leclef, Savtchenko en Gengou gezien hadden, Wright met zijn leer het innige verband herstelde, dat de samenwerking van cellen en vochten kenmerkt, toen eindelijk is de verzoening gekomen. Maar Wright kende te weinig waarde toe aan de phagocyten, die hij een weinig belangrijken factor noemde, welke alleen waarde kregen door de omspoelende vloeistof. De spontaan-phagocytose heeft geleerd, dat de strijd zich direct kan aanbinden tusschen microbe en vreetcel.

Tegenover den saprophyt of den weinig virulenten microbe kan de phagocyt alleen volstaan; de virulente bacteriën, die de leucocyten verre weten te houden, moeten zij eerst phagocytabel maken door een specifieke antistof, die zich direct tegen de virulentie richt. De witte bloedlichaampjes van een normaal dier bezitten deze eigenschap slechts in geringe mate, doch in het immune organisme zijn de leucocyten en de leucopoietische organen door een verhoogde functie tot een machtige antilichaamproductie in staat; hier zijn dus de leukocyten als 't ware getraind. Maar gaan wij met deze bewering niet te ver? Wij zijn hiermede immers geheel en al weer terug op het oude standpunt van Metchnikoff.

In verband met deze hypothese vermeld ik de resultaten van twee onderzoekers, die mij zeer belangrijk lijken. Pettersson[1]) spoot *a.* immuunserum en typhusbacillen en *b.* immuunserum en leucocyten en typhusbacillen in de peritoneaalholte van cavia's in en hij kon zich toen overtuigen: 1°. van de phagocytose-bevorderende kracht van het immuunserum en 2°. van de verhooging van de beschermende kracht van het immuunserum door toevoeging van leucocyten. Later[2]) vulde hij deze waar-

---

[1]) Centr. f. Bact. Bd. 60 Orig. p. 527.
[2]) Centr. f. Bact. Bd. 62 Orig. p. 56.

nemingen met de volgende proeven aan: een serie cavia's werden ingespoten met een zeer virulenten vibrio Metchnikoff en immuunserum, een tweede serie kreeg behalve immuunserum en vibrionen ook leucocyten; de eerste dieren stierven, die van de tweede serie bleven in leven. „Durch die Zusammenwirkung der Leucocyten und des Serums ist eine gewaltige Schutzwirkung erreicht." Een derde reeks sluit zich bij deze aan en bevestigt de belangrijke rol van de witte bloedlichaampjes van geïmmuniseerde konijnen, want met deze leucocyten alleen kon hij het gewenschte preventieve effect krijgen; de contrôle-cavia, die was ingespoten met leucocyten van een normaal dier en vibrionen ging te gronde. Salimbeni[1]) noemt dit resultaat „une constatation de fait d'une importance capitale". Genoemde onderzoeker controleerde Pettersson's resultaten met positief gevolg en bestudeerde van meer nabij de werkelijke training, die de witte bloedlichaampjes tijdens het immuniseeren krijgen. Zelfs bij zeer zwak geïmmuniseerde dieren (die 2 injecties van $^1/_{10}$—$^1/_5$ cultuur doode bacillen hadden gehad en nog geen werkzaam immuunserum leverden), kreeg hij met peritoneaalexsudaten, die rijk aan leucocyten waren, een sterke beschermende kracht, terwijl dezelfde dosis serum van het geïmmuniseerde dier alleen of gemengd met leucocyten van een normaal dier, werkeloos was. Maar nog sprekender zijn de proeven[2]), waarin hij de beschermende kracht van de leucocyten met die van het serum en de van de cellen ontdane peritoneaalexsudaten van gehypervaccineerde dieren (die in den loop van 6 weken 2 injecties van doode en 4 injecties van levende microben — $^1/_{100}$, $^1/_{75}$, $^1/_{50}$ en $^1/_{20}$ cultuur — hadden gekregen) vergeleek. Daarbij vond hij, dat een dosis van zelfs 4 maal

[1]) Ann. de l'Inst. Past. 1909 p. 558.
[2]) l. c. p. 563.

gewasschen leucocyten van het peritoneaalexsudaat (opgewekt door inspuiting van gluten-caseïne) een grootere bescherming geeft dan dezelfde dosis exsudaatvloeistof of serum.

Het merkwaardige was, dat toen hij ophield met de vaccineering, dus het trainen der immuunleucocyten werd gestaakt, het verschil tusschen de beschermende kracht van het serum en der witte bloedlichaampjes verminderde en eindelijk ophield. Twee en een halve maand na de laatste inspuiting waren de leucocyten niet meer in staat het normale dier tegen een letale dosis microben te beschermen, terwijl de exsudaatvloeistof en het serum dit nog wel deden. Zijne conclusie luidt: „Toutes proportions gardées, et à poids égaux, le pouvoir préventif des leucocytes chez les animaux hypervaccinés est beaucoup supérieur à celui du sérum". Bij de studie van het intracellulaire verteringsproces zag hij evenals Metchnikoff en zijn leerlingen de vibrionen onder vorming van korreltjes te gronde gaan in de leucocyten; alleen wanneer er phagolyse was, had ook vervorming van de vibrionen buiten de cellen plaats. „Les résultats de ces recherches constituent encore une preuve à l'appui de l'origine leucocytaire des substances actives, qu'on rencontre dans le sérum des animaux vaccinés". Het is niet van belang ontbloot in mededeelingen van 1909 te zien, hoe nog steeds onderzoekers zich overtuigen, dat Metchnikoff in zijn strijd tegen de humoraalpathologie de waarheid heeft gezien, en hoe de theorie van den leucocytairen oorsprong der antistoffen, door Buchner gehuldigd, haar beteekenis behouden heeft.

Hiermede heb ik uiteengezet wat mijn opvating is over de rol, die de witte bloedlichaampjes spelen, en welke de factoren zijn, die het proces der phagocytose kenmerken.

TWEEDE GEDEELTE.

In dit deel stel ik mij ten doel te bespreken, hoe Wright zijn ideeën aan het ziekbed toepast, en welke algemeene en bijzondere regels hij in zijn klinische methode heeft neergelegd als resultaat van het systematische onderzoek van de opsonische kracht van het bloedserum van lijders aan infecties.

Ik wil vervolgens nauwkeurig de methode der bepaling van den opsonischen index beschrijven, de moeilijkheden opsommen en de practisch bereikbare resultaten meedeelen, die de ervaring zijn van een maandenlange practijk. Aan de hand van mijn uitkomsten, door vergelijking met en critiek op de resultaten van anderen, zal ik nagaan in hoeverre de bedenkingen, die vooral van uit Duitschland tegen de methode gemaakt zijn, recht van bestaan hebben, en verder bespreken of de groote waarde, die Wright aan zijn methode voor de diagnose en voor de prognose toekent, een werkelijke is.

De arbeid van Wright op theoretisch gebied is zeker niet zijn meest verdienstelijke. Afgezien nog van het feit, dat vóór hem Denys, Leclef en Savtchenko reeds hadden gevonden, dat de medewerking van het serum van groot belang is bij de phagocytose, heeft zijn

gedachte om de opsonische immuniteit een afzonderlijke plaats toe te kennen, behalve bij enkele landgenooten, geen ingang gevonden. Het voornaamste en zeker meest waardevolle van zijn arbeid ligt op klinisch terrein.

Bij tal van infecties heeft Wright door vergelijking van de opsonische kracht van het bloedserum van patiënten met dat van gezonden, getracht gegevens te vinden, die van waarde zouden kunnen zijn voor de diagnose en prognose. En dit is hem grootendeels gelukt. En als logisch gevolg heeft hij daarop een therapeutisch systeem gebouwd, dat vinnige tegenstanders en vurige aanhangers heeft gehad en nog heeft. De waarheid ligt, zooals meestal, in 't midden; met oordeel toegepast, kan zijn behandeling zeker op schoone successen wijzen.

Wright en zijn medewerkers (Douglas, Reid, Bulloch, Atkin) hebben voornamelijk serum van patiënten onderzocht, die lijdende waren aan staphylomycosen en tuberculose. Algemeen uitgedrukt hebben zij deze regel gevonden: „*Het serum van een patiënt, lijdend aan een locale of algemeene infectie, heeft een opsonische kracht, die afwijkt van die van het serum van gezonde personen*". Wanneer wij gewasschen leucocyten samenbrengen met het serum van den patiënt en een emulsie van de bacteriën, die de oorzaak der ziekte zijn, en hiernaast gewasschen leucocyten en normaal serum met dezelfde bacteriënemulsie, dan beide mengsels 15 min. bij 37° C. laten staan en vervolgens het aantal opgenomen bacteriën in beide gevallen tellen, dan zien wij, dat die getallen meestal verschillen en soms zelfs zeer aanzienlijk.

Telt men nu het aantal bacteriën, opgenomen door 100 polynucleaire witte bloedlichaampjes en deelt men dit door 100, dan heeft men het gemiddelde aantal, dat

per leucocyt is opgenomen; dit getal noemt Wright *den phagocytairen index.* De deeling van den phagocytairen index van den patiënt door dien van een gezond persoon geeft *den opsonischen index.* Hebben dus 100 witte bloedlichaampjes in het patiëntenserum 150 microben gephagocyteerd en in het normale serum 300, dan zijn de phagocytaire indices resp. 1,5 en 3, de opsonische index is dan $= \frac{1,5}{3} = 0,5$. Tot hetzelfde getal komen wij natuurlijk ook door deeling van de geheele in de beide gevallen opgenomen aantallen bacteriën $\frac{150}{300} = 0,5$. De opsonische kracht wordt dus niet in absolute cijfers, maar in relatieve uitgedrukt, en deze methode heeft alleen dan waarde, wanneer de opsonische kracht van normale sera gelijk is. En nu is door talrijke bepalingen uitgemaakt, dat zulks werkelijk het geval is, en verder, dat de opsonische kracht van een bepaald normaal serum, op verschillende tijden bepaald, weinig of niet onderhevig is aan schommelingen. In den loop der jaren, dat in het laboratorium van St. Mary's Hospital te Londen het opsoninen-onderzoek wordt verricht, zijn honderden gezonde sera vergeleken geworden, en daaruit heeft Wright empirisch vastgesteld, dat de normale opsonische index slechts 2/10 schommelt en dus elke index van 0,8-1,2 als normaal moet worden aangezien. Van verschillende zijden is deze door Wright vastgestelde waarde gecontroleerd en bijna algemeen als juist aangenomen, al moge een enkele, zooals b.v. Trench[1]) de normale grenzen wat ruimer stellen, n.l. van 0,7 tot 1,3.

Ook de Duitschers hebben dezelfde waarden gevonden; Strübell[2]) heeft 50 gezonde sera onderzocht en in 127

---

[1]) Ref. Münch. med. Woch. 1907 p. 1451.
[2]) Centralbl. f. Bact. Abt. I Bd. 52 Orig. p. 406.

bepalingen, waarbij hij telkens 2 sera vergeleek en den index van één van beide = 1 stelde, kreeg hij de volgende uitkomsten:

4	maal	was	de	I	onder 0,9	= 3,15 %
15	„	„	„	I	0,90—0,94	= 11,81 %
96	„	„	„	I	0,95—1,05	= 75,79 %
9	„	„	„	I	1,06—1,10	= 7,08 %
3	„	„	„	I	boven 1,10	= 2,36 %

dus index van 0,9—1,10 in 94,68 %.

De grenzen zijn dus zeer ruim genomen door Wright; ik heb dan ook gevonden, dat b.v. Clarke en Fossyth[1]) gevallen, die een tuberculo-opsonischen index boven 1,1 of onder 0,9 hebben, reeds voor verdacht aanzien, en onder verdere observatie nemen. Wanneer Strübell dezelfde sera 2 maal onderzocht op verschillenden tijd, dan bleken de schommelingen zeer klein; hij kreeg n.l. bij 146 dubbelonderzoekingen in 86 gevallen (= 58,9 %) 0-5 % verschil, in 48 gevallen (= 32,8 %) 6-10 % verschil, zoodat dus hetzelfde serum op verschillenden tijd afgenomen in 91,7 % maar 0,1 % varieerde. Een dergelijk feit is van de grootste beteekenis en geeft een krachtigen steun aan de opvatting van Wright over de constante waarde van de normale opsonische kracht. Wolff en Reiter[2]) vonden bij gezonden den index nooit hooger dan 1,15 en nooit lager dan 0,85. Ook Fleming[3]) heeft van Aug. 1906—Juli 1907 in Wright's laboratorium een groot aantal normale sera onderzocht en op duidelijke wijze aangetoond wat hij noemt "the constancy of the control". De meeste sera werd meer dan eens onderzocht, gewoonlijk van 3 tot 77 maal, in één geval

---

[1]) Ref. in Münch. med. Woch. 1908 p. 1251.
[2]) Deutsche med. Woch. 1909 p. 1177.
[3]) Practitioner. May 1908 p. 607.

zelfs 193 maal; hij deed bij 44 sera 635 bepalingen en vond den index bij 0,8 % beneden 0,90, bij 10,1 % tusschen 0,90 en 0,95, bij 76 % tusschen 0,95 en 1,05; bij 10,7 % tusschen 1,05 en 1,10 en bij 1,7 % boven 1,10. Een klein percentage valt dus feitelijk buiten de grenzen 0,9 en 1,10 en Fleming merkt dan ook op, dat goed geoefende onderzoekers, die zeker zijn van hun methode, in St. Mary's Hospital elk serum voor verdacht aanzien, wanneer de index lager dan 0.9 of hooger dan 1.1 is.

Van de Engelsche onderzoekers valt nog Bulloch[1]) te vermelden die zijn eigen serum = 1 stellende vond:

bij 34 gezonde medici als doorsnede een tuberculo-opsonischen index van 0,965, aldus verdeeld:

1 geval	= 1,2	2 gevallen	= 0,96
13 gevallen	= 1	6 „	= 0,90
6 „	= 0,98	2 „	= 0,85
3 „	= 0,97	1 geval	= 0,80

bij 32 gezonde verpleegsters vond hij gemiddeld I = 0,969

5 gevallen	= 1,1	1 geval	= 0,95
13 „	= 1	6 gevallen	= 0,90
1 geval	= 0,98	1 geval	= 0,85
2 gevallen	= 0,97	3 gevallen	= 0,80

Bulloch vermeldt verder, dat zijn resultaten geheel overeenstemmen met die van Urwich, die in het laboratorium van Wright onder diens leiding normale sera onderzocht.

Zelf heb ik mij altijd gehouden aan de grenzen, door Wright gesteld. Bij de eerste bepalingen nam ik als contrôle 2 normale sera, die ik ieder afzonderlijk gebruikte voor een phagocytair mengsel; wanneer de indices niet te veel van elkaar afweken, gebruikte ik het gemiddelde als normaal getal. En daarbij ben ik tot

---

[1]) Wright, l. c. p. 81 en vv.

de overtuiging gekomen dat zelfs de beginneling, die zich nauwkeurig houdt aan de voorschriften van Wright, ongeveer nooit schommelingen krijgt boven 0,4.

Reeds bij de eerste klinische onderzoekingen van Wright met Douglas[1]) overtuigde hij zich bij een aan zware sycosis lijdenden man, dat diens serum tegenover staphylocokken een zeer afwijkenden index had. Bij de opname bedroeg deze nauwelijks de helft van den normalen (0,45); toen de toestand plaatselijk en algemeen was verbeterd, na 3 met flinke tusschenpoozen gegeven inspuitingen van staphylocokken-vaccin, zagen zij dat de opsonische index zeer belangrijk boven de norm was gestegen tot 2,1.

Verder[2]) vonden ze in gevallen van sycosis, acne, furunculose en andere plaatselijke afwijkingen in 't algemeen een verlaagden index; nooit was deze bij staphylocokkenaandoeningen normaal en daaruit besluiten zij, dat de vermindering van de phagocytaire kracht in oorzakelijk verband staat tot de aandoening. Is nu deze vermindering de oorzaak of wel een gevolg van de infectie? Op grond van het feit, dat bij lichte aandoeningen, waarbij alle algemeene symptomen ontbreken, niettemin het bloed van den aanvang af een verminderd opsonisch vermogen heeft, acht Wright de eerste opvatting de juiste. Bovendien bleek in het geïnfecteerde lichaam de verdeeling der opsoninen niet gelijkmatig, maar op de plaats der primaire aandoening steeds verminderd te zijn; bij een patiënt met een alveolairabsces was de phagocytaire index van het etterserum en het bloedserum resp. 5,1 en 30, bij een door staphylocokken veroorzaakt patellairabsces resp. 1,25 en 14,2. Dit feit

---

[1]) Proc. Roy. Soc. Vol. 73 p. 128.

[2]) Proc. Roy. Soc. Vol. 74. Studien über Immunisierung p. 18 en 36.

drukken Wright en Douglas uit door te zeggen: „*op de infectieplaats is de bacteriotrope druk verminderd*". Ten opzichte van de tuberculeuze infectie heeft hij analoge onderzoekingen gedaan[1]) en vond, dat bij plaatselijke aandoeningen de opsonische kracht van het bloedserum verlaagd is. Vergeleken ze den index van de ettervloeistof uit een tuberculeus absces met dien van het bloedserum van den patiënt, dan bleek constant een zeer belangrijke verlaging van de ettervloeistof.

Bulloch ging na, in hoeverre bij lupuslijders de bepaling van den index van het bloedserum diagnostische waarde heeft, en vond bij 150 patiënten een gemiddelde waarde van 0,75. 75 % hadden een pathologisch verlaagden index (beneden 0.8) 9,3 % een I = 1 en hooger dan 1 (tot 1,4). In een later uitgekomen mededeeling van Wright en Reid[2]) wordt een tabel gepubliceerd van 31 gevallen van gelocaliseerde tuberculose (koude abscessen, niertuberculose, lymphadenitis en ostitis tuberculosa etc.) zonder algemeene verschijnselen. Meestal was de index laag, in geen enkel geval boven 0,9; maar in 6 gevallen viel hij binnen de physiologische grenzen: dus ook hier gold in 't algemeen de bovengenoemde regel.

In gevallen van sereuze processen van tuberculeuzen aard wijst Wright op het voordeel om door onderzoek van het serum een bevestiging van de diagnose te krijgen; wanneer tuberculose de oorzaak is zou n.l. de bacteriotrope druk in den ontstekingshaard lager zijn dan in het bloedserum.

Een tegenstelling tot de eerstgenoemde gevallen leveren die, waar de infectie niet alleen plaatselijk, maar op het geheele organisme haar invloed doet gelden, zooals

---

1) Stud. u. Immun. p. 45 en p. 91.
2) Proc. Roy. Soc. Vol. 77 1906.

blijkt uit de koorts, de vermagering enz. Een goed voorbeeld leveren de gevallen van actieve tuberculose van de long, die zich kenmerken door een wisselend opsoningehalte, dat zeer hoog boven of zeer laag onder het normale kan zijn. Deze schommelingen zijn volgens Wright de uitdrukking van de opname van toxische stoffen uit den primairen haard in het bloed, waardoor de antilichaamvorming verhoogd kan worden, wanneer het organisme nog in staat is tot reactie. Er heeft dan, wat Wright noemt „autoinoculatie" plaats, die zich uitdrukt in indexverandering, geheel overeenkomstig de kunstmatige inoculatie b. v. door inspuiting van een kleine hoeveelheid tuberculine. Wanneer men een dergelijke injectie verricht bij een tuberculeus individu, dan daalt de index eerst om daarna te rijzen, en terug te komen op de oorspronkelijke hoogte of zich tijdelijk of duurzaam daarboven te verheffen. Wij drukken dit aldus uit: er is een negatieve phase gekomen, die gevolgd is door een positieve. Dikwijls wordt de eerste voorafgegaan door een kleine en snel voorbijgaande rijzing van den index, de z. g. „false rise"[1][2]). De negatieve phase wordt vaak begeleid door een vermindering van het subjectief welbevinden en een verslechtering van den klinischen toestand, de positieve door algemeene verbetering.[3]) Clarke en Halliday Sutherland[4]) geven de volgende verklaring van de negatieve phase: Wanneer tuberculine wordt ingespoten, worden de voorhanden opsoninen door het anti geen gebonden; het gevolg is de vorming van nieuwe opsoninen, die ook weer vastgelegd worden. Op een zeker oogenblik zal er dus te kort zijn aan opsoninen

[1]) Brit. med. Journal 22 July 1905.
[2]) Strübell, Münch. klin. Woch. 1907 p. 2172.
[3]) Clive Rivière in Brit. med. Journ. 13 April 1907.
[4]) Lancet 1907 II p. 158.

en dit drukt zich uit in de negatieve phase. Naar gelang van de grootte van de dosis antigeen zal de negatieve phase grooter zijn, de reactiesnelheid van het organisme beheerscht den duur. De regeneratie, die het te kort aan opsonin aanvult, kan ook hier leiden tot een overproductie, zoodat de index meer en meer rijst en een positieve phase tot stand komt. Geleidelijk neemt daarna de prikkeling van de opsonin-vormende organen af; de index kan weer normaal worden en langzaam tot de vroegere waarde terug komen. Deze hypothese sluit zich geheel aan bij de voorstelling, die Ehrlich zich maakt van de vorming der antistoffen en het optreden van de vrije receptoren. De dikwijls geziene kleine positieve phase aan het begin verklaren zij op de volgende, m. i. onbegrijpelijke wijze, dat op het oogenblik van de injectie een zeer klein gedeelte onmiddellijk in den bloedsomloop komt, waarschijnlijk door ruptuur van kleine vaatjes. (?) Deze geringe hoeveelheid bindt genoeg opsonine om tot nieuwvorming te prikkelen, is echter niet groot genoeg om een negatieve phase te geven. Zoo is er in 't begin een kleine vermeerdering van vrij opsonine, een kleine positieve phase. Maar deze toestand is voorbijgaande; de groote hoeveelheid bleef op de inspuitingsplaats en wordt langzaam later in de groote circulatie opgenomen en brengt na de absorpsie het eigenlijke effect te weeg.

Nu staat vast, dat tuberculeuze individuën een groote gevoeligheid voor de in hun lichaam ontstane of kunstmatig ingespoten tuberculine hebben en onmiddellijk met verandering van den index reageeren. Dit feit is van groot gewicht voor de diagnose en hiervan wordt dan ook in de laatste jaren veelvuldig in de kliniek gebruik gemaakt. Wij zagen reeds, dat bij gezonden de index merkwaardig standvastig is; bij

lijders aan tuberculose stelde men vast, dat de phagocytaire kracht van het bloed uiterst labiel is. Beweging, onderzoek van de borst enz. kunnen bij hen een kleine toxinopname veroorzaken, die zich onmiddellijk in de indexkromme als negatieve phase uitdrukt. Bij verdenking op osteomyelitis of arthritis is massage of stuwing van de aangedane plaats voldoende om hetzelfde verschijnsel op te wekken. Inspuiting van zeer kleine hoeveelheden Alttuberkulin ($^1/_{10000}$ mgr. volgens Mitulescu) kunnen een belangrijke indexschommeling geven, die over de diagnose kan beslissen. Stewart en Ritchie[1]), die bijzonder gewicht hechten aan het onderzoek naar de negatieve phase, zeggen dan ook, dat als deze na een tuberculine-injectie ontbreekt, men tuberculose mag uitsluiten, en als zij aanwezig is, mag aannemen. Ik geloof, dat het eerste gedeelte van hun bewering juist is, in het tweede gaan ze te ver. Trench[2]) toch zag dikwijls bij gezonden na $^1/_{5000}$ mgr. T. R. een kleine daling die zelfs 2 dagen kan aanhouden, maar bij tuberculeuze patiënten is deze daling groot en duurt zij altijd lang. Shaw[3]) zag na $^1/_{750}$ mgr. T. R. bij gezonden geen, bij tuberculeuzen altijd een flinke indexdaling, die specifiek is; wordt echter een te groote dosis gegeven, dan kan de index ook ten opzichte van andere microörganismen, dus op onspecifieke wijze, dalen; de verklaring hiervoor is waarschijnlijk, dat door overprikkeling de productiviteit van de cellen, die de antilichamen leveren, verminderd wordt. Stewart en Ritchie[4]) vonden bij inspuiting met T. R. (ze gaven $^1/_{500}$ mgr. bij volwassenen, $^1/_{1000}$ mgr. bij kinderen) dat de negatieve phase meestal geringer was, indien de

---

[1]) Edinburgh med. Journ. 1907 May.
[2]) Brit. med. Journ. 1907 Febr. 2.
[3]) Lancet 1907 May 4.
[4]) Lancet 1907 I p. 809.

index te voren laag was; de gemiddelde daling was 0,2. Bij 62 tuberculeuze patienten kregen ze in 56 gevallen een negatieve phase (= 90,3 %), bij 13 gezonden in geen enkel geval. De duur van de schommeling is zeer verschillend en kan van 3 dagen tot 3 weken bedragen. Szaboky[1]) is ook overtuigd van de voortreffelijkheid van dit diagnostische hulpmiddel en schat de waarde ervan hooger dan die van de reacties van Calmette, van Pirquet en Morro, en de complementbindingsmethode.

Zoo wordt dus de mogelijkheid van de diagnose verhoogd door het feit, dat men met onschadelijke hoeveelheden tuberculine een fijn reagens heeft in de schommeling van het zoo gevoelige opsonische vermogen van het bloedserum. Maar niet minder belangrijk is wisseling van den index als uitdrukking van de autoinoculatie, in zekeren zin een vaccinatie van het lichaam met zelfgeleverde tuberculinen. Wright denkt zich dan ook het verloop van een actieve tuberculose als een opeenvolging van negatieve en positieve phasen, die door haar mindere of meerdere opportuniteit over de prognose beslissen. Vandaar zijn standpunt, dat een tuberculinbehandeling alleen mag verricht worden aan de hand van de indexbepaling, om niet door ontijdige nieuwe inspuiting het therapeutisch gevolg te niet te doen.

Typisch is de opsoninenkromme bij ziekten als de croupeuze pneumonie, die vaak een kenmerkende, tot een hoogtepunt stijgend en dan critisch dalend temperatuurverloop hebben. In 't begin is zij steeds verlaagd, volgens Wright meer als oorzaak dan als gevolg van de ziekte; op het oogenblik van de crisis gaan de temperatuur- en opsonincurve elkaar kruisen, en in het reconvalescentiestadium komt een hoog gehalte van

---

[1]) Berl. klin. Woch. 1909 p. 1480.

het bloed aan opsoninen voor. Waar het organisme uitgeput is, blijft deze verhooging uit; de verlaging is dan de uitdrukking van een onvoldoende immuniseeringsreactie, die bij chronische uitputtende ziekten zou voorkomen.

Samenvattende kunnen wij dus deze regels geven:

a. een lagen index vinden wij bij: 1°. een infectie, die haar invloed streng plaatselijk doet gelden; 2°. wanneer het organisme zoodanig is uitgeput, dat het niet meer tot reactie in staat is.

b. een hoogen index vinden wij: 1°. wanneer het organisme met goed gevolg heeft gereageerd; 2°. als positieve phase in antwoord op kunstmatige of autoinoculatie.

c. een wisselende index wijst op een infectie, die door periodieke giftresorpsie haar invloed op het organisme doet gelden.

Hiermede kan ik overgaan tot het beschrijven van de methode van opsoninenbepaling. In Engeland en Amerika heeft dit onderzoek zich geheel ingeburgerd in de kliniek, in Frankrijk heeft (met name in de kliniek van Dieulafoy) vooral het therapeutische gedeelte van de opsoninenleer de aandacht getrokken; in Duitschland is ze ook geprobeerd en heeft op enkele uitzonderingen na een storm van kritiek ontketend. Ik zal hiervan ook het voornaamste meedeelen en de waarde van die kritiek toetsen aan mijn eigen ondervinding. Voor de bepaling van den opsonischen index zijn noodig: *a.* bloedserum van den patiënt en een normaal contrôleserum (z. g. poolserum van de Engelschen); *b.* leucocyten (de z. g. cream) en *c.* bacteriënemulsie. Het serum wordt verkregen door enkele droppels bloed te laten stollen. Bij Wright heeft men daarvoor een speciaal glazen afneembuisje vervaardigd, met niet te wijd lumen, dat aan

beide zijden tot een capillair wordt uitgetrokken en waarvan dat uiteinde, dat met den bloeddruppel in aanraking komt (*a*) bovendien wordt omgebogen; men krijgt daardoor een buisje van typischen vorm[1]). Om bloed af te nemen wordt de vingertop goed gereinigd; daarna houdt men de hand naar beneden, snoert een der vingers met een dun elastiek zacht af, waardoor een matige stuwing wordt verkregen, en geeft een vluggen prik in de buurt van het nagelbed[2]), 't zij met de naald van Francke, of liever met het puntig in de vlam uitgetrokken uiteinde *b;* doet men dit vlak vóór het gebruik, dan heeft men daardoor een uitstekend aseptisch lancetje gekregen. Bij patiënten met anaemische en magere handen is het verstandig te voren de hand goed laag te houden en door zachte massage den bloedstoevoer wat te vermeerderen; anders kost het te veel moeite een voldoende hoeveelheid bloed te krijgen en mislukt door het te langzaam bloeden en de dan optredende stolling de nu te beschrijven „truc". Men houdt n.l. nu het uiteinde *a* in den druppel, nadat aan het uiteinde *b* natuurlijk eerst de punt is afgebroken; door de capillariteit wordt het bloed in het buisje gezogen. Dit alles moet snel gaan, zoodat het bloed vloeibaar blijft. Zoodra men voldoende bloed heeft (tot *c*), verwarmt men voorzichtig (om niet door te groote hitte de opsoninen te verwoesten) het uiteinde *b* in een klein vlammetje, b.v. het spaarvlammetje van een brander van Bunsen. Er komt dan een luchtverdunning tusschen *b* en *c*, en wanneer nu *b* is dichtgesmolten en is afgekoeld, wordt het nog niet gestolde bloed (alles moet vlug gaan) verder in het buisje getrokken, zoodat

---

1) Zie fig.
2) Zie fig.

het geheele capillaire uiteinde *a* ook vrij van bloed wordt; nu eerst mag men dit zonder gevaar op dezelfde wijze dichtsmelten. Wanneer het bloed goed gestold is (men kan dit bevorderen door het eenigen tijd in de stoof bij 37° te zetten) wordt het buisje met het uiteinde *a* in de centrifuge gehangen en zoo het serum van het coagulum gescheiden. Ik heb het uiteinde *a* eenvoudig recht gelaten; het voordeel hiervan is dat het buisje gemakkelijk te maken is, en dat men bij het dichtsmelten van het uiteinde *a* nog minder kans heeft te hooge warmte in de nabijheid van het bloed te ontwikkelen. Het centrifugeeren gaat even gemakkelijk, als men maar zorg draagt het buisje in een grootere buis te plaatsen, die op den bodem van een propje watten is voorzien. De aldus dichtgesmolten afneembuisjes kunnen uren in kamertemperatuur bij gewoon diffuus daglicht bewaard worden. Fleming zag echter bij open buisjes vrij spoedige vermindering van de opsoninen; ook zonlicht is schadelijk, evenals een te lang verblijf in de broedstoof; staan in de ijskast heeft geen invloed.

De leucocyten worden verkregen uit bloed, dat men met een oplossing van 1,5 % citras natricus in 0,85 % zoutsolutie behandelt, om de stolling te voorkomen. Het bloed wordt wederom uit den afgesnoerden vingertop afgenomen, echter nu met een pipet, die eerst goed met citras natricus van buiten en binnen bevochtigd is. De oplossing van citras natricus moet helder zijn; ze bederft spoedig; daarom is het zeer aan te raden ze iederen dag versch te bereiden. Tegenwoordig zijn tabletten met citras natricus in den handel, volgens het recept van Wright vervaardigd, en verkrijgbaar bij Parke, Davis & Co. Men laat nu eenige druppels bloed in de citras natricus solutie vallen, en zorge verder, dat de verhouding van deze oplossing tot het

opgevangen bloed ongeveer als 3 : 1 is; anders kunnen er leucocyten beschadigd worden en gaan samenkleven, waardoor de preparaten bederven en de resultaten onbetrouwbaar worden. Het bloed valt door zijn zwaarte naar den bodem; is er genoeg bloed in het buisje, dan mengt men flink met de citras natricus-oplossing, door den geheelen inhoud op en neer te zuigen in de in het buisje gestoken pipet, zoodat ten slotte alles een gelijkmatige kleur heeft, en centrifugeert niet lang en niet te sterk, omdat reeds spoedig al de bloedlichaampjes neerslaan en de witte als een fijn laagje zich boven op de roode afzetten. Door een Franschen auteur[1]) is de opmerking gemaakt, dat deze bewerking de meest delicate is van alle bij het opsoninonderzoek. Met name zegt hij, dat te hard centrifugeeren de leucocyten bederft, waardoor hun phagocytair vermogen zou afnemen, in de preparaten herkenbaar door een vacuolenvorming. Ik heb nooit iets dergelijks gezien. Het bovenstaande vocht wordt afgepipetteerd en door zoutsolutie vervangen. Men mengt goed, centrifugeert weer en deze bewerking wordt 2 à 3 maal herhaald; dan heeft men ten slotte na alle zoutsolutie zorgvuldig afgepipetteerd te hebben, de gewasschen roode en witte bloedlichaampjes, de z.g. cream. Vóór het maken van de preparaten is het zaak deze cream door op en neer laten gaan in het uitgetrokken gedeelte van een met een caoutchoucdop voorziene schoone pipet innig te mengen[2]), daar het natuurlijk van het grootste belang is dat de leucocyten gelijkmatig in de cream verdeeld zijn. Men kan deze cream eenige uren bewaren.

Het moeilijkste van alle voorbereidende bewerkingen

[1]) R. Gaultier, Les opsonines et la thérapeutique opsonisante. Paris 1909 (Baillière & Fils) p. 30.

[2]) Zie fig. 3.

is zonder twijfel het maken van een goede bacteriën-emulsie of -suspensie. Men neemt een kleine hoeveelheid gedroogde tuberkelbacillen[1]) en mengt die voorzichtig in een agaten mortier met een zóó kleinen druppel 1,5 % of 0,1 % zoutsolutie, dat het te wrijven materiaal een zalfachtige consistentie heeft. Door voorzichtig telkens iets bij te voegen, zorgt men, dat deze consistentie bewaard blijft; en nu wrijft men met zorg minstens 1 uur, beter nog 1½ á 2 uur[2]); meestal kreeg ik na 1 uur onberispelijke emulsies. Wanneer dit is afgeloopen, voegt men voorzichtig meer zoutoplossing toe, tot men ten slotte een zeer dikke melkwitte standaardemulsie heeft gekregen, die in een niet te wijde, van onderen in een punt uitgetrokken buis wordt uitgegoten en een dag in de ijskast gezet. Dan hebben de aan de wrijving ontsnapte bacteriënklompjes tijd uit te zakken, wat men gemakkelijk ziet aan het dikke bezinksel onder in de buis. Men pipetteert nu de bovenstaande zuivere emulsie af, die in verschillende kleine buizen in de ijskast bewaard wordt en daarmee maakt men dan gemakkelijk nog na 14 dagen prachtige emulsies in alle verdunningen; vóór 't gebruik is echter altijd een voorzichtig centrifugeeren aan te raden. Ik mag er ook nog op wijzen, dat het goed is alles zoo steriel mogelijk te doen, omdat zich anders soms andere microben vermeerderen, die eerstens de schatting van de dichtheid der tuberkelbacillen-emulsie onmogelijk maken en tweedens de preparaten zeer verontreinigen. Bij alle opsonische proeven geldt de regel: hoe netter werk, hoe beter resultaten. Ik gaf boven aan, dat de emulsies gemaakt worden

---

[1]) In den handel bij Hoechst verkrijgbaar.

[2]) Strübell raadt aan nooit minder dan 2 uur te wrijven. Tegenwoordig gebruikt men bij Wright een speciaal voor dit doel geslepen glazen mortier, waarmede de bewerking zeer verkort zou worden.

niet met physiologische zoutsolutie, maar met 1,5 % of 0,1 % zoutsolutie. Wright bemerkte n.l. reeds bij zijn eerste proeven, dat emulsies van tuberkelbacillen groote neiging hebben tot agglutinatie, wat ze onbruikbaar maakte voor goede opsonische praeparaten, en dat dit is te voorkomen door een zwakkere of sterkere zoutoplossing dan 0,85 %. Een grooter bezwaar was de zoo sterk optredende spontaanphagocytose. Wright heeft te zamen met Reid[1]) deze aan een nader onderzoek onderworpen en gevonden, dat men ze door verandering van het zoutgehalte (vooral door verhooging) tot 0 kan terugbrengen; bij een zoutgehalte boven 1,0 % is ze 0, bij 0,6 % Na. Cl. het hoogst. Zoo is men er toe gekomen om voor de tuberkelbacillen-emulsie meest 1,5 % zoutsolutie te gebruiken. Ik heb mij zoowel van 0,1 % als van 1,5 % Na. Cl. oplossingen bediend en kreeg met de eerste steeds mooiere resultaten, zoodat ik die bijna uitsluitend gebruikt heb. Men heeft trouwens van Duitschen kant uitgemaakt, dat de fout aan de spontaanphagocytose te wijten zeer klein is, n.l. 4 % bij 15 min. duur der proef (Buse[2])).

Het maken van een bacillenemulsie, zooals ik het beschreef, mag misschien uiterst gemakkelijk schijnen, wie er zich voor 't eerst mee bezig houdt, zal bemerken, dat het een zaak is van groot geduld en nauwkeurigheid. Tegenwoordig zijn de emulsies ook in den handel (Allen & Hambury, Londen) verkrijgbaar.

De suspensies van andere bacteriën worden bereid door van een 24 uur oude cultuur in zoutsolutie te verdeelen. Voor de gemakkelijk emulsioneerbare microben b.v. staphylococcus, bacillus Friedländer, kan men vrij ruw te werk gaan; men giet eenvoudig wat

---

[1]) Wright l. c. p. 109.
[2]) Deutsche med. Woch. 1909 p. 569.

zoutoplossing op de cultuur en schudt, giet af en centrifugeert ter verwijdering van de klompjes. Maar andere soorten zooals pneumo- en streptocokken eischen een veel voorzichtiger behandeling, en ik beschouw dan ook het maken van een goede suspensie van deze als het moeilijkste van al het opsonische werk. Ten eerste groeien beide op gewone media zeer moeilijk en langzaam; vloeibare media zijn uit den booze, omdat daarin de streptococcus langere ketens vormt dan op vaste bodems en ook de pneumococcus daarin meestal in ketens groeit, en de individuën van een keten zijn verbazend moeilijk van elkaar te krijgen.

Het meeste succes heb ik gehad met den konijnenbloedaardappel-agarbodem van Bordet[1]), waarop beide soorten vrij overvloedig groeien; het condensatiewater moet echter niet gebruikt worden, omdat zij daarin weer lange ketens vormen.

Het beste is aldus te werk te gaan: op een horlogeglaasje brengt men met een platina-oogje een kleine hoeveelheid cultuur, bevochtigt die even met zoutsolutie en roert goed totdat alle grove brokjes geëmulsioneerd zijn. Telkens brengt men opnieuw een weinigje cultuur en wat zoutoplossing op het glaasje; hoofdzaak is zeer langzaam te werk te gaan om zoo mogelijk een egale stamemulsie te krijgen. Dan neemt men een korte, niet te dunne pipet, waarvan het capillaire einde met een diamant goed recht is afgesneden. De pipet zet men loodrecht in de emulsie en door nu krachtig op te zuigen en uit te blazen, verhoogt men de homogeniteit van de emulsie, en kan men langzamerhand meer zoutsolutie bijvoegen. Wanneer de emulsie klaar is, is het goed even te centrifugeeren. Op deze wijze gelukte het

---

[1]) Het recept wordt op pag. 114 gegeven.

mij steeds goede pneumocokken-emulsies te krijgen, maar sommige streptocokkenstammen behouden hun ketenvorm zoo hardnekkig, dat ze geheel ongeschikt zijn voor opsoninenproeven. Zoo heb ik een streptococcus uit sputum gekweekt, bij welken alle middelen om er een goede emulsie van te maken faalden. (2 uur schudden in een schudmachine, behandeling met alcali of zuur, dat daarna verwijderd werd door wassching, niets was in staat er een bruikbare suspensie mede te maken.) In dergelijke gevallen moet men eenvoudig tot een anderen stam zijn toevlucht nemen. Pneumo- en streptocokkenemulsies, mits steriel bereid, kunnen in de ijskast dagen bewaard worden (Kentzler[1]), Schiffman Kohn[2])). Wel zakken ze vlug uit maar door schudden is dat weer op te heffen. Voor het gebruik maakt men door bijvoeging van zoutoplossing de vereischte verdunning; hoe sterk die moet zijn, is het beste voor iedere bacteriesoort door het gebruik te leeren. Men heeft wel getracht om door vergelijking met onveranderlijke onopgeloste stoffen (b.v. van bariumsulfaat en lecithine, Meijer[3])) de juiste dichtheid aan te geven, maar dit heeft geen ingang gevonden.

Een goede gewoonte, door de Engelschen aangenomen is het, om vóór het begin van de proef een z.g. „trial trip" (Probeausstrich der Duitschers) te verrichten, om te beoordeelen of de dichtheid van de suspensie de juiste is. Men kan dan tevens controleeren of de leucocyten in goeden toestand zijn. Algemeen is vastgesteld, dat voor tuberkelbacillen het gemiddelde phagocytaire getal 2 à 3 moet zijn, bij andere microben mogen de getallen grooter zijn, b.v. 4 à 6. Dat de dichtheid niet onver-

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 1909 Bd. 67 p. 131.
[2]) Wien. klin. Woch. 1909 p. 82.
[3]) Berl. klin. Woch. 1908 p. 951.

schillig is, bewees Buse[1]) door vergelijkende telling van verschillende preparaten of van verschillende 100-tallen leucocyten in hetzelfde preparaat. Wanneer hij de emulsie zoo dun maakte, dat het gemiddelde phagocytaire cyfer 1 à 2, 2,5 à 3 en 4 à 5 was, kreeg hij een gemiddelde fout resp. van 15 %, 12 % en 7 %.

Wij komen nu tot de beschrijving van de techniek van het maken der phagocytaire mengsels, en van de opsonische preparaten.

Wanneer alle voorbereidselen gemaakt zijn, zet men de goed homogene bacteriënemulsie, het heldere serum en de flink gemengde cream voor zich, liefst in een Petri'sche schaal met plasticin (boetseerklei); in deze taaie, nooit indrogende massa blijven de puntige buisjes met de ingrediënten goed staan. Men zoekt nu eenige pipetten uit, die zooveel mogelijk even dik zijn en geeft ongeveer 2 cM. van het goed recht afgesneden einde met een glaspotlood een merkteeken; de pipet wordt aan het dikke einde voorzien met een z.g. „teat" (caoutchouc dop).

Men neemt nu den caoutchouc dop tusschen duim en tweeden vinger, steunt met den derden vinger het dikke einde van de pipet en steekt nu eerst in de cream, zuigt deze in de capillaire buis tot het streepje, neemt de pipet voorzichtig uit de vloeistof, en laat nu het kolommetje cream door drukvermindering op den dop een klein stukje rijzen, zoodat aan het einde een luchtbelletje wordt opengelaten. en neemt nu achtereenvolgens op dezelfde wijze gelijke volumina bacteriënsuspensie en serum[2]).

Nadat alles opgezogen is, drukt men zacht, terwijl onderarm en ulnaire kant van de hand op de tafel

---

[1]) Deutsche med. Woch. 1909 p. 569.
[2]) Zie fig. 5.

steunen, en het capillaire einde van de pipet op een te voren schoongemaakt objectglas rust, den geheelen inhoud op een objectglaasje uit[1]); door den druk op de teat te verminderen zuigt men weer op, men drukt weer uit, enz. tot 6 à 7 maal; dan is alles goed gemengd, en nu zuigt men ten slotte alles een weinig verder in het capillaire einde van de pipet, smelt dit dicht en neemt de teat af. Het phagocytaire mengsel is nu klaar en wordt in de stoof bij 37° geplaatst gedurende 15 min. In Londen gebruikt men hiervoor een z.g. „opsoniser", een speciaal ingerichte stoof, die aan beide kanten met horizontale ronde kanaaltjes voorzien is, waarin de pipetten kunnen geschoven worden[2]). Het kost een heelen tijd voor men dit werk zeker en vlug kan doen.

De bekwame opsonist kan gemakkelijk binnen het kwartier met 5 sera de bewerking verricht hebben, zoodat hij op het einde van het kwartier onmiddellijk kan overgaan tot het verwerken van de mengsels tot microscopische praeparaten. Men neemt daartoe de pipet uit de stoof, zet de teat er weer op, zorg dragend den knellenden ring van den dop even te verwijden, en wat lucht in het bovenste einde van de pipet toe te laten. Verzuimt men dit, dan wordt doordien de warme lucht in de pipet afkoelt en inkrimpt, na afbreking van het capillaire einde de kolom van het phagocytaire mengsel door den grooteren buitendruk in het wijde gedeelte der pipet gedreven, waar alles zich tegen de wanden aanzet, van welke het niet meer af te krijgen is. Men zet dus lege artis den dop op de pipet en breekt met een diamantje het dichtgesmolten stukje van het capillair af, mengt alles weer op een glaasje volgens de reeds

1) Zie fig. 4.

2) Verkrijgbaar bij Henry Crouch, London en bij Lane, St. Mary's Hospital.

beschreven wijze goed dooreen, en brengt nu op een van te voren klaargelegd objectglaasje aan het einde een klein druppeltje en strijkt achtereenvolgens met de z.g. „spreader" de verschillende preparaten.

Men gebruikt liefst mooi geslepen z.g. Engelsche objectglazen, die men goed schoongemaakt voorhanden moet hebben in een mengsel van gelijke deelen alcohol en ether. Voor het gebruik heeft men ze alleen te drogen en even door de vlam te halen; om mooie uitstrijkpreparaten te krijgen neemt men bij voorkeur de eenigszins convexe zijde, die men herkent als den op een gladde oppervlakte gemakkelijkst ronddraaienden kant. Een eerste vereischte is thans zindelijkheid, en afwezigheid van stof. De uitspreider wordt gemaakt door een zeer dun objectglas te nemen, halverwege van de lange zijde aan den rand een kleinen kras met den diamant te geven en dan de twee helften als 't ware van elkaar te trekken. Dat stuk, waarvan de breuklijn zeer licht concaaf loopt en volkomen scherp en zonder insnijdingen is, is bruikbaar als uitspreider.

Het uitstrijken zelf leert men alleen door oefening; regels zijn daarvoor haast niet te geven. Den druppel legt men aan den linkerkant midden op het objectglas: men zet den scherpen kant van den uitspreider in 't midden, en nu moet de hoek tusschen den uitspreider en het objectglas zóó zijn, dat de druppel zich langs den geheelen rand van den eersten gelijkmatig uitspreidt, dien men nu langzaam zonder druk en zonder drukverandering van links naar rechts beweegt[1]); bij een goed gelukt preparaat liggen dan alle leucocyten bij elkaar aan den rand.

Een goed preparaat moet aan twee eischen voldoen:

---

[1]) Zie fig. 6.

1°. de randzone moet niet te dik zijn; anders vindt men tusschen het groote aantal roode bloedlichaampjes de witte nauwlijks terug, die door druk bovendien ineengedrongen worden, zoodat de telling der bacteriën onmogelijk wordt; verder gelukt in die gevallen een mooie kleuring bijna nooit. 2°. de randzone moet scherp, en niet te veel gekronkeld zijn. Hiermee hangt de gelijkmatigheid van verschillende deelen van het preparaat samen, zooals op het laboratorium van Wright is vastgesteld. Verder zorge men niet over de preparaten te ademen en verre te blijven met warme handen. Voor fixatie heb ik steeds met het beste gevolg zuiveren methylalcohol gebruikt, gedurende 10 minuten; bij Wright en in Amerika bezigt men verzadigde oplossing van sublimaat.

Voor de kleuring van preparaten met tuberkelbacillen ging ik aldus te werk:

1. Drogen, fixeeren.
2. Kleuren onder zachte verwarming met carbolfuchsine, 5 min.
3. Even indompelen in zwavelzuur 5 %, met water afwasschen.
4. Even dompelen in 3 % azijnzuur en afspoelen met water[1]).
5. Nakleuren 2 sec. met gerijpt methyleenblauw.

Fornet en Porter roemen ten zeerste de volgende kleuring.

1. Drogen en fixeeren.
2. Ehrlich's haematoxyline 4 uur; afspoelen, drogen.
3. Warme carbolfuchsine 10 min.
4. 2 % Zoutzure aniline 1 min.
5. Ontkleuren met 96 % alcohol (zonder voorafgaande afspoeling).
6. Nakleuren met 1 % methyleenblauwoplossing.

't Protoplasma der leucocyten in nu bleekviolet, de kern donkerblauw, de bacillen donkerrood. Zij verkiezen

---

[1]) Dit dient om de erythrocyten, die door het zwavelzuur misvormd zijn en voor de nakleuring zeer storend zouden zijn, te verwijderen.

hun methode, omdat het dikwijls moeilijk is het protoplasma goed gekleurd te krijgen, daar dit veel lijdt bij de ontkleuring (dit vond ik ook).

Ook W. Bulloch (c.f. Wright l. c. pag. 84) raadt deze kleuring aan.

De groote moeilijkheid is de witte bloedlichaampjes zoo te kleuren, dat het protoplasma mooi af te grenzen is van de omgeving, en men dus duidelijk kan zien, of bacillen tegen een cel aan of in het cellichaam liggen. De verwarming met carbolfuchsine en de nabehandeling met zwavelzuur hebben dikwijls de leucocyten beschadigd, zoodat ze niet fraai meer het methyleenblauw opnemen. Het is daarom goed de carbolfuchsine niet te warm en niet te lang te laten inwerken (Strübell); toch zal men dikwijls ondanks voorzichtige voorbehandeling geen goede nakleuring krijgen. Met het oog hierop wordt met recht aangeraden z. g. gerijpt methyleenblauw te gebruiken, waarin door behandeling met alcaliën en lang staan oxydatieproducten zijn ontstaan, die kern en protoplasma sterk kleuren. Abelman[1]) raadt aan methyleenblauw ½ % — $Na_2 Co_3$ ½ % — aq. destill. 99 %; ook Strübell gebruikt dit. Neufeld beveelt aan te kleuren met Manson'sche borax-methyleenblauwoplossing, die een jaar heeft gestaan. Ik gebruikte steeds:

methyleenblauw (Höchst) gr. 3.
bicarbonat. natr. gr. 5.
aq. destillat. gr. 100.

dit wordt opgekookt, den volgenden dag wordt het gefiltreerd; daarna laat ik het liefst nog eenige maanden staan, waardoor het kleurend vermogen aanmerkelijk toeneemt. Hiermede kreeg ik werkelijk prachtige resul-

[1]) Zie ref. Wien. klin. Woch. 1908 p. 134.

taten. Het preparaat moet door afspoelen in water een weinig vochtig zijn, dan doet men een paar druppels van de kleurstof op de plaats waar de leucocyten zich bevinden, en reeds na een paar seconden heeft de kleurstof voldoende ingewerkt; 't protoplasma is dan helderblauw, de kernen zijn blauwviolet. Men moet kort laten inwerken, anders is het preparaat overkleurd. Volledigheidshalve vermeld ik nog, dat behalve voor tuberkelbacillen ook carbolthionine een goede kleurstof is.

De bereidingswijze is als volgt:

geconcentreerde alcoholische (50 %) oplossing van thionine 10.
1 % oplossing van acidum carbol. in aq. destill. 100.

De kleurstof verwarmen; daarna 5 min. kleuren en afspoelen.

Het protoplasma vooral kleurt zich zeer goed, maar 't is soms moeilijk dicht bij de kern liggende bacteriën goed te onderscheiden.

Ook heb ik wel de kleurstof van May-Grünwald gebruikt, die Saathoff[1]) zeer aanraadt; m. i. zijn echter de neutrophiele korrels hier storend. Door de wijziging van Assmann[2]) (toevoeging van een spoor $Ka_2\ Co_3$) is dit bezwaar wel eenigszins op te heffen, maar toch vind ik voor opsonische preparaten ook dan de methode alles behalve ideaal.

Het tellen is bijzonder inspannend en tijdroovend. Tegenwoordig telt men algemeen in elk preparaat 100 leucocyten; vroeger veel minder, maar men heeft

---

1) Münch. med. Woch. 1908 p. 779.
2) Zie hiervoor R. Abel, Bacteriologisches Taschenbuch 1910 p. 47.
3) Zeitschr. f. klin. Med. 1909 Bd. 67 p. 131.

ondervonden, dat dan de fouten te groot worden, later kom ik hierop terug.

Volgens de boven beschreven methode nu heb ik opsonin-onderzoekingen verricht bij lijders aan tuberculose, in de eerste plaats om na te gaan in hoeverre daardoor de diagnose werd bevestigd, waar de bekende klinische methoden met zekerheid of groote waarschijnlijkheid den tuberculeuzen aard der infectie reeds hadden vastgesteld. Zoo heb ik lijders aan longtuberculose in alle stadia, aan pleuritis (genezen en ongenezen), ostitis en lymphadenitis tuberculosa onderzocht. Bij enkele patiënten met z.g. open longtuberculose, bij wie de resorpsie van toxinen zich liet vermoeden door het klinisch verloop, heb ik tevens de sputa onderzocht op de gemengde infectie, zoo mogelijk de microben van deze zuiver gekweekt, en dan onderzocht of ook tegenover deze bacteriën het opsonische vermogen van het bloed afwijkingen vertoonde. Van deze gemengde infecties heb ik bij enkele gedurende langen tijd den opsonischen index bepaald om na te gaan of het verloop, de temperatuurcurve verband aanwezen met de opsoninkromme.

De beschrijving van de techniek heeft voldoende aangetoond, dat de methode op zijn zachtst genomen een zeer gecompliceerde is. Wil zij ooit kans hebben in de klinische diagnostiek ingeburgerd te worden, dan mogen wij tenminste verwachten, dat ze door haar groote waarde een compensatie geeft voor de bezwaren, die aan haar uitvoering verbonden zijn. Laten wij zien in hoeverre ze daaraan voldoet. Ik zal daarvoor de tabel geven van het resultaat, dat ik kreeg bij éénmalig onderzoek van den opsonischen index bij een reeks van 40 patiënten, met toevoeging van klinische diagnose.

TABEL.

1. Pat. L. ♂ 12 j. Pleurit. exsud. sin. tuberculosa. Er werd punctie verricht, waarbij vocht werd ontlast, dat veel fibrine bevatte. Cytologisch onderzoek: roode bloedlich. en lymphocyten. Glycerine-aardappel cultures bleven steriel . . I = 0,43

2. Pat. Br. ♂ 36 j. Pleurit. exsud. dextra tuberculosa; had 10 jaar geleden ook pleuritus gehad. Gepuncteerd, het vocht werd geënt op glycerine-aardappel. Er kwam een reincultuur op van tub. bac. . . . . I = 1,1

3. Pat J. B. ♀ 14 j. Pleur. exsudat. duplex tuberc. Gepuncteerd; vocht bevatte roode bloedlich. en voornamelijk lymphocyten. Met exsudaat ingespoten cavia, stierf aan gegeneraliseerde tuberculose . . . . . I = 0,66

4. Pat. A. Z. ♀ 13 j. Spondylitis tuberculosa, tub. pulmon; infiltraat van linker long . . . . . I = 1

5. Pat. C. J. ♀ 14 j. Tub. pulm.; beginnende infiltratie van beide toppen, in sputum tub. bac. gevonden I = 0,77

6. Pat. G. R. ♀ 22 j. Tub. pulm. infiltratie en caverne in de rechter bovenkwab, tub. bac. in sputa gevonden. . . . . I = 0,58

7. Pat. J. K. ♂ 43 j. Tub. pulm. et laryngis; beiderzijds caverne in de bovenkwab, sputum bevat tub. bac.. . . . . I = 0,69

8. Pat. M. W. ♀ 22 j. Tub. pulm. Topcatarrh in in rechter long, tub. bac. in sputum . . . . I = 0,62

9. Pat. M. R. ♀ 20 j. Tub. pulm. lobulair infiltraat van de linker bovenkwab, tub. bac. in sputum I = 0,55

10. Pat. W. K. ♀ 18 j. Lymphadenitis tuberculosa; in linker inframandib. streek groote klieren met centrale verweeking; bij doorlichting groote klieren aan den hilus pulmonum . . . . . I = 0,78

11. Pat. De H. ♀ 28 j. Tub. pulm. Topcatarrh rechts, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,51

12. Pat. E. S. ♀ 59 j. Tub. pulm. beiderzijds infiltratie van de bovenkwab, in sputum tub. bac. . . . I = 0,76

13. Pat. A. B. ♀ 33 j. Tub. pulm.; met haemoptoë binnengekomen, lichte afwijkingen in beide apices, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,83

14. Pat. Tr. K. ♀ 21 j. Tub. pulm. rechts topcatarrh. Haemoptoë. Vroeger lymphadenitis met verweeking, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,58

15. Pat. A. L. ♂ 31 j. Tub. pulm. et laryngis; infiltraat van de rechter bovenkwab, episcleritis tuberculosa, tub. bac. in sputum . . . . . I = 1,04

16. Pat. G. G. ♂ 11 j. Tub. pulm. Bronchitis beiderzijds, rechts overheerschend, in sputum geen tub. bac. gevonden . . . . . I = 1,04

17. Pat. H. W. ♂ 26 j. Tub. pulm.; beiderzijds topinfiltraat, tub. bac. in sputum. . . . . I = 1,1

18. Pat. E. ♂ 15 j. Tub. pulm., links infiltraat bovenkwab, rechts infiltraat bovenkwab met cavernen, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,85

19. Pat. Sch. ♂ 53 j. Phtisis fibrosa pulm. infiltraat en cavernen in beide bovenkwabben, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,95

20. Pat. F. ♂ 64 j. Tub. pulm. infiltraat geheele rechter pulmo met cavernen in midden en onderkwab, door sectie bevestigd . . . . . I = 0,77

21. Pat. E. S. ♀ 19 j. Tub. pulm. beiderzijds topcatarrh, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,65

22. Pat. v. G. ♀ 19 j. Tub. pulm. infiltratie der rechter bovenkwab met caverne, beginnende infiltratie der linker bovenkwab, tub. bac. in sputum . . . I = 1,1

23. Pat. W. ♂ 27 j. Tub. pulm. laryngis et intestinorum, dikwijls haemoptoë. Rechts infiltraat en caverne in boven- en middenkwab, links infiltr. boven- en onderkw., tub. bac. in sputum . . . I = 0,75

24. Pat. H. ♂ 59 j. Tub. pulm. caverne in rechter bovenkwab, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,79

25. Pat. G. B. ♀ 22 j. Tub. pulm. beiderzijds infiltratie der bovenkwab, rechts caverne in de bovenkwab, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,72

26. Pat. Kl ♀ 30 j. Tub. pulm.; cavernen in rechter top, links cirrhose, tub. bac. in sputum, later aan miliair tuberculose gesuccumbeerd . . . . . I = 0,57

27. Pat. St. ♂ 27 j. Tub. pulm. et intestin.; amyloïed van lever, milt en nier, tub. bac. in sputum. . I = 1

28. Pat. J. C. ♂ 21 j. Tub. pulm. Haemoptoë, rechts phthisis fibrosa caverne in de bovenkwab, tub. bac. in sputum. . . . . I = 0,74

29. Pat. H. R. ♂ 37 j. Tub. pulm., dikwijls haemoptoë. beiderzijds diff. bronchit., vooral in de bovenkwabben, tub. bac. in sputum. . . . . I = 1

30. Pat. M. K. T. ♀ 28 j. Tub. pulmon., meermalen haemoptoë. infiltr. en caverne in bovenkwab, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,52

31. Pat. K. ♂ 27 j. Tub. pulm. lobulair infiltraat rechts en links topcatarrh tub. bac. in sputum I = 0,709

32. Pat. d. O. ♂ 45 j. Tub. pulm., dikwijls haemoptoë. rechter long geinfiltr., caverne in bovenkwab, links infiltraat der bovenkwab. tub. bac. in sputum . I = 0,59

33. Pat. K. ♂ 21 j. Tub. pulm. et intest.; linker long: infiltraat der bovenkwab; rechter long: cavernen in boven- en onderkwab met sterke infiltratie, tub. bac. in sputum . . . . . I = 0,85

34. Pat. L. Br. ♂ 25 j. Diabetes mellitus en tub. pulm. beiderzijds topinfiltraat en rechts caverne, tub. bac. in sputum. . . . . I = 0,71

35. Pat. H. ♂ 45 j. Pleuritis exsud. sinistra. Tub. pulm. Gepuncteerd, exsudaat met lymphocytose. Cavia, ingespoten met exsudaat, stierf aan tuberculose. In sputum en uit exsudaat tub. bac. gekweekt I = 0,68

36. Pat. O. ♀ 25 j. Pleur. exsud. dextra tuberculosa. Punctie; cytolog. formule: lymphocytose. cavia ingespoten, die aan tuberculose overleed . . . I = 1,22

37. Pat. W. H. ♂ 32 j. Pleuritis exsud. dextra. Punctie; cytolog. formule: lymphocytose; tuberculeuse fistel naast anus. Cultuur op glycerine-aardappel niet opgekomen . . . . . I = 1,05

38. Pat. v. d. V. ♀ 49 j. Pleur. exsud. dextra tuberculosa. Punctie; cytologisch: lymphocytose. Op glycerine-aardappel zijn tub. bac. opgekomen . I = 0,8

39. Pat. F. ♂ 21 j. Tuberculosis pulm. et pleuritis exsud. sinistra; in linker bovenkwab infiltratie met retractie. Tub. bac. in sputum, gepuncteerd: cytolog. formule: lymphocytose . . . . . I = 0,77

40. Pat. Kr. ♀ 41 j. Tub. pulm. et pleur. exsud. sin. diffuus infiltraat beide bovenkwabben. Tub. bac. in sputum. Gepuncteerd; cytologische formule: lymphocytose . . . . . I = 0,95

Zonder vast systeem werden die gevallen onderzocht, zooals zij in de kliniek aanwezig waren. Onder de 40 gevallen zijn 9 van pleuritis tuberculosa; van deze geven 4 een normale index, één geval had een iets te hoogen de andere 4 een te lagen index. In zijn geheel weergegeven aldus:

1	Pat. L.	I = 0,43	37	Pat. W. H.	I = 1,05
2	„ Br.	I = 1,1	38	„ v. d. V.	I = 0,8
3	„ J. B.	I = 0,66	39	„ F.	I = 0,77
35	„ H.	I = 0,68	40	„ Kr.	I = 0,95
36	„ O.	I = 1,22			

Pat. 1 en 2 werden onderzocht, toen ze genezen het gasthuis verlieten. Vooral pat. 1 was zeer aangekomen en werd ook subjectief volkomen goed ontslagen. (Gew. 32 K.G.— 36,6 K.G.). Niettemin is de I = 0,43. Prognostische waarde heeft de bepaling in dit geval dus niet; ondanks de genezing kan de index laag, zelfs zeer laag blijven.

In de gevallen 2, 36, 37, 38 en 40 heeft de éénmaal verrichte bepaling geen diagnostische waarde. In geval 2 werd punctie verricht, het vocht op glycerine-aardappel geënt en door het opkomen van een reincultuur van tuberkelbacillen de diagnose zeker. In dit geval zou men de opmerking kunnen maken dat met de genezing

de weerstand verhoogd, en daardoor de index normaal is geworden. Dat dit werkelijk soms het geval is, bewijst geval 3, waar I = 0,66 werd gevonden, toen de klinische toestand minder goed was; patiënte was subjectief ziek, vermagerde, febriciteerde en had veel vocht. Na een punctie, waarbij 750 cM. ontlast werd, ging ze gaandeweg vooruit en toen na eenigen tijd de toestand aanmerkelijk verbeterd was, onderzocht ik haar weer en vond I = 1,14, dus normaal; hier drukte werkelijk de verbetering zich uit in de curve van den index. Een ander geval (36) heeft I = 1,22; aan een zoo geringe afwijking mag geen beslissende diagnostische beteekenis worden toegekend, wat trouwens nog bevestigd wordt, als ik het onderzoek van het pleuravocht van deze patiënte bespreek. Later onderzocht ik haar weer en vond I = 1,1, dus normaal. Het zoo eenvoudige cytologische onderzoek had al dadelijk vermoeden op tuberculose gegeven, wat bevestigd werd door het feit, dat de met het vocht ingespoten cavia aan tuberculose bezweek. De tijdroovende en moeilijke opsonische bepaling is dus bij deze patiënte zelfs 2 maal zonder waarde geweest. Bij pat. 35, bij wien de index laag was (= 0,68) werd deze nog twee maal bepaald; één dag na het eerste onderzoek bleek hij 0,69 te zijn, dus ongeveer even laag. De klinische toestand bleef dezelfde, en toen later weer een punctie werd verricht, onderzocht ik opnieuw den index, die nu 0,82, dus normaal was. Eenig verband tusschen klinisch verloop en index is hier allerminst en vooral verliest hier de opsoninbepaling aan gewicht, omdat bij den patiënt in het punctievocht lymphocytose als celformule werd gevonden en bovendien nog tuberkelbacillen. Bezien wij nu de andere gevallen nader; in geval 10 (lymphadenitis) is de index 0,78; hier zou dus op het opsonische onderzoek ook de diagnose tuberculose gemaakt zijn.

In 't geval van spondylitis tuberculosa (gev. 4) werd de I = 1 gevonden; de éénmalige onderzoeking was dus van geen waarde. Bij deze patiënte heb ik, omdat ze ook verdachte longverschijnselen had en hoestte, den index nog eenige malen onderzocht en daarbij de volgende uitkomst gekregen:

11 Maart '10	I = 1	15 Maart '10	I = 0,33
14 „	I = 1,39	16 „	I = 0,32

m.a.w. De index vertoont een positieve en een negatieve phase, zoodat waarschijnlijk een auto-inoculatie plaats heeft gehad, en de diagnose absolutie zeker bevestigd is.

Maar men vergete niet, wat een moeite en tijd dusdanig onderzoek kost. De overblijvende 29 gevallen zijn meestal vergevorderde gevallen van longtuberculose, waarvan er 16 krachtens het physisch onderzoek gerekend moeten worden tot het 3e stadium.

geval	6. G. R.	I = 0,58	geval	25. G. B.	I = 0,72
„	7. J. K.	I = 0,69	„	26. Kl.	I = 0,57
„	18. E.	I = 0,85	„	27. St.	I = 1
„	19. Sch.	I = 0,95	„	28. J. C.	I = 0,74
„	20. F.	I = 0,77	„	30. M. K. T.	I = 0,52
„	22. v. G.	I = 1,1	„	32. d. O.	I = 0,59
„	23. W.	I = 0,75	„	33. K.	I = 0,85
„	24. H.	I = 0,79	„	34. Br.	I = 0,71

Bij 5 van die 16 gevallen valt bij eerste onderzoek de index binnen de normale grenzen. De patiënten werden meerendeels onderzocht terwijl ze voortdurend bedlegerig waren, en dus autoinoculatie zoo veel mogelijk uitgesloten kon worden. Als men nagaat, hoe bijna zonder uitzondering het physische onderzoek te zamen met het vinden van tuberkelbacillen in het sputum de diagnose zeker maakt, verliest dit éénmalige opsonin-onderzoek zeer veel van zijn waarde. Ik wijs b.v. op de gevallen No. 22 en 27, waar de ops. I resp. = 1,1

en = 1 was, dus niet beslissend voor de diagnose, en waar het onderzoek van het sputum op bacillen positief uitviel. Toch zien wij, dat in het meerendeel der gevallen de index abnormaal is en bij herhaald onderzoek is, zooals ik zal aantoonen, de diagnose altijd te maken met opsoninonderzoek. Turban en Baer[1]) hechten daarom wel degelijk waarde aan dit onderzoek ook in de laatste stadia en wijzen met name op het nut voor een differentiaaldiagnose tusschen longtuberculose en longlues. Voor de overige, tot het 1ste en 2de stadium behoorende gevallen mag hetzelfde gezegd worden. Gewoonlijk is het eerste onderzoek reeds beslissend; bij herhaalde bepaling van den index is de diagnose altijd te maken. In zijn geheel weergegeven is de tabel aldus:

geval	5. C. J.	I = 0,77	geval	14. T. K.	I = 0,58
„	8. W.	I = 0,62	„	16. G. G.	I = 1,04
„	9. M. R.	I = 0,55	„	17. H. W.	I = 1,1
„	11. d. H.	I = 0,51	„	21. E. S.	I = 0,65
„	12. E. S.	I = 0,76	„	29. H. R.	I = 1
„	13. A. B.	I = 0,83	„	31. K.	I = 0,709

Door vergelijking van deze tabel met de bovenstaande zien wij, dat in de vroegere stadia het eerste onderzoek dezelfde beteekenis heeft voor de diagnose als in het derde stadium. De verklaring, waarom in de latere stadia de index nog zoo vaak normaal wordt gevonden, is naar alle waarschijnlijkheid hierin gelegen, dat in het caverneuze stadium opname van toxinen meer voorkomt, waardoor de index wisselt, en deze schommeling geeft meer kans, dat bij eerste onderzoek de index binnen de physiologische grenzen wordt gevonden.

Tot mijn spijt heb ik niet de gelegenheid gehad patiënten in het allereerste begin te onderzoeken; de zieken in de kliniek waren allen reeds in een verder

1) Beitr. z. Klin. d. Tuberc. X 1908 en Münch. med. Woch. 1908 p. 1993.

stadium. Bij den aanvang van het proces is de localisatie veel grooter, en is er nog weinig sprake van toxinopname, waardoor het evenwicht van de immuniteitsverschijnselen veel stabieler is. Mogelijk ook is, dat in het begin meer gevonden wordt de op hereditairen of anderen grondslag verkregen opsoninarmoede, die door de school van Wright wordt aangezien als de oorzaak van het uitbreken van het proces. Wanneer ik van mijn 40 gevallen den index bereken, dan blijkt, dat deze 16 maal (dus in 39 % van de gevallen) binnen physiologische grenzen, 24 maal er buiten viel; dat wil dus zeggen, dat in 61 % de diagnose den eersten keer uit het opsoninonderzoek was te maken. Voor een methode, die zoo gecompliceerd is, die zooveel oefening, moeite en tijd vereischt, is dit betrekkelijk weinig, vergeleken bij de andere klinische methoden, die langs zooveel eenvoudiger weg tot een even betrouwbare uitkomst leiden. Geven deze laatste echter geen zekere uitkomst, dan kan ze werkelijk beslissend zijn. De resultaten van anderen zijn evenwel veel gunstiger en ik vind het voor een juiste waardeering van de diagnostische beteekenis van de methode noodig die te vermelden. Fornet en Krenker[1]) vonden bij éénmalig onderzoek in 35 gevallen met vaststaande diagnose 22 maal (77 %) den index lager dan 0,8 of hooger dan 1,2; 9 daarvan konden meer dan eens onderzocht worden en daarbij bleek, dat bij alle 9, één of meermalen een pathologisch veranderden index werd gevonden. Wat dit laatste betreft komen mijn uitkomsten, zooals later zal blijken, geheel hiermede overeen.

E. Fraser[2]) vond bij 75 % een pathologischen index

---

[1]) Centralbl. f. Bact. Beil. z. Abt. I Bd. 44 Ref. p. 21.
[2]) Glasgow med. Journ. March 1907.

bij de eerste bepaling. Stewart en Ritchie[1]), die aan één bepaling geen waarde toekennen, vonden bij eerste onderzoek van 82 verdachte gevallen 41 maal den index abnormaal (50 %); door kunstmatig een negatieve phase op te wekken kregen zij bij 62 gevallen van initiaaltuberculose 56 maal (90,3 %) een positief resultaat. Hieruit volgt, dat men òf door meermalen den index te bepalen, òf wel door een negatieve phase op te wekken, bijna altijd de diagnose vaststellen kan. Wanneer dus herhaald physisch onderzoek en nauwkeurig sputumonderzoek geen besliste uitkomst geeft, kan dikwijls de groote moeite van het opsoninonderzoek ruimschoots beloond worden.

De resultaten van Wolff en Reiter[2]) zijn ook veel bevredigender dan de mijne. Zij onderzochten 64 gevallen, waaronder 30 beginnende, 15 gevallen van het 1ste stad., 6 van het 2de stad. en 13 van het 3de stad. Hun uitkomsten zijn als volgt:

Van de beginnende gevallen: verlaagde I in 15 gev. (= 50 %) verhoogde I in 10 gev. (= 33 %) normale I in 5 gev. (= 18 %).
In Stad. I: verlaagde I in 10 gev. (= 62 %) verhoogde I in 4 gev. (= 27 %) normale I in 1 gev. (= 7 %).
In Stad. II: verlaagde I in 4 gev. (= 66 %) verhoogde I in 0 gev. normale I in 2 gev. (= 33 %).
In Stad. III: verlaagde I in 11 gev. (= 84 %) verhoogde I in 2 gev. (= 15 %) normale I in 0 gev.

Strübell, die te Londen de methode leerde en haar nu in Duitschland geregeld toepast, komt zeer op voor hare deugdelijkheid en den grooten steun, dien ze voor de diagnose kan hebben. Hij publiceerde[3]) een onderzoek van 50 lijders aan tuberculose, van deze vindt hij bij

---

1) Edinb. med. Journ. May 1907 en Lancet 1907 I p. 809.
2) Deutsche med. Woch. 1909 p. 1177.
3) Centralbl. f. Bact. Abt. I Bd. 54 Orig. p. 44.

één keer den I te bepalen maar in 38 % van de gevallen den I = 0,9—1,10, bij 33,57 % onder 0,90 en bij 28,82 % boven 1,1. Hij neemt de physiologische grenzen veel enger dan Wright en rechtvaardigt dit met een vergelijkend onderzoek van 44 gezonde sera, waarbij hij den index in 95 % van 0,9—1,1 vond, geheel in overeenstemming met A. Fleming van St. Mary's Hospital (97 %); de 97 % (Fleming) resp. 95 % (Strübell) van normale tuberculo-opsonische indices tusschen 0,9 en 1,10 zijn dus bij tuberculoselijders gereduceerd op 38 %. Maar ook hij zegt met nadruk, dat in twijfelachtige gevallen één bepaling niet voldoende is voor een zekere diagnose, maar dat men langen of korten tijd moet onderzoeken en daarbij een of meer flinke uitslagen moet hebben. Zonder twijfel, op deze wijze is de methode van een buitengewone vertrouwbaarheid. Maar een zoodanige geregelde bepaling kan alleen verricht worden in laboratoria, waar voortdurend wordt gewerkt door geoefende onderzoekers, waar steeds een goede emulsie van bacillen gereed is, en dagelijks cream van bloedlichaampjes wordt klaargemaakt, zoodat de preparatieven tot een minimum beperkt worden. Wanneer werkelijk niet wordt opgezien tegen de moeite van een herhaald onderzoek, wanneer door een van de besproken middelen de negatieve phase wordt opgewekt, zal het wel in alle gevallen tot een zekere diagnose kunnen gebracht worden. Maar in de opsomming van deze zwaarwegende voorwaarden ligt al opgesloten, hoe weinig deze methode geschikt is om zich als diagnosticum in de algemeene klinische praxis te verbreiden en in te burgeren. Ik vermeld ten slotte een door Mitulescu[1]) aangehaalde studie van Szaboky, waarin

[1]) Berl. klin. Woch. 1909 p. 1477.

deze verschillende methoden aan een vergelijkend onderzoek onderwierp, en hare bruikbaarheid rangschikte naar het percentage van de positieve resultaten. Voorop staat de tuberculin-injectie, waarmede hij in 94,75 % positief resultaat kreeg; daarna volgt het opsoninonderzoek met 81 %, terwijl de ophthalmoreactie en de reacties van v. Pirquet en Morro met resp. 79 % en 58,5 % volgen. Rekent men daar nu bij, dat de tuberculine-inspuiting in alle gevallen met koorts onbruikbaar is, dat ze volstrekt niet ongevaarlijk is, let men verder op de omstandigheid, dat men het opsoninonderzoek zekerder maakt met de bepaling van de negatieve phase, en dat deze laatste in gevallen, waar men terugschrikt voor de minimale dosis $^1/_{10000}$ T.R. waarvoor de opsoninschommeling al gevoelig is, te verkrijgen is met andere middelen (massage, beweging etc.), dan begrijpt men, dat wij gerust mogen zeggen, dat voor de diagnose van de tuberculose het opsoninonderzoek wel degelijk groote waarde heeft. In Duitschland en Engeland bestaan reeds laboratoria uitsluitend hiervoor ingericht; bloedserum, vergezeld van een gezond contrôleserum, mits in goed van de lucht afgesloten en voor te sterk licht beschermde buisjes bewaard, blijft uren lang bruikbaar, en wordt dan ook met succes door de practici naar zulke inrichtingen ter onderzoek gezonden.

Ik kom nu tot het tweede gedeelte van mijn onderzoek, waarin ik bij enkele langeren tijd op de kliniek vertoevende patienten behalve den tuberculo-opsonischen index ook dien ten opzichte van de microben der gemengde infectie bepaalde. Tevens stelde ik bij sommigen het verloop vast van de kromme van één of meer van de indices om zoo mogelijk verdere gegevens (b.v. omtrent de prognose) te verkrijgen.

Bekend is, dat Robert Koch[1]) het eerst de aandacht heeft gevestigd op de beteekenis van de gemengde infectie bij de tuberculose. Gezonde longen zijn met enkele uitzonderingen vrij van microörganismen (Cornet en Meyer[2])) daarentegen heeft men gewoonlijk in het tuberculeuze longweefsel microben gevonden, die ettering kunnen veroorzaken en rottingsbacteriën. Ondanks dit feit heerscht groot verschil van meening over de beteekenis van de menginfectie. Terwijl voor sommigen de invloed op het klinische en anatomische beeld gering is (Schröder[3])), voor anderen (Baumgarten[4])) zich alleen tegen het einde van het leven doet gelden, hebben weer anderen (Koch, Cornet[5]), Petruschky[6]) Spengler[7]), Sata[8]) de opvatting verdedigd, dat voor een deel het kwaadaardige en snelle verloop van het ulcereuze proces, als ook de hectische koorts op rekening van de menginfectie komen. Er zijn echter nauwkeurig onderzochte febriele gevallen bekend, waarbij tijdens het leven in het sputum en na den dood in de long uitsluitend tuberkelbacillen zijn gevonden, zoodat deze dan alleen aansprakelijk moeten gesteld worden voor de koorts en voor de acute of subacute, in den vorm van pneumonische haarden optredende afwijkingen in het longweefsel. Dat de begeleidende bronchitis altijd het gevolg is van de gemengde infectie, schijnt wel weerlegd te worden door de plaatselijke reactie na een tuberculine-

---

[1]) Mitt. Kais. Ges. Amte 1884.
[2]) Kolle & Wassermann, Bd. II p. 176.
[3]) Münch. med. Woch. 1904 p. 473.
[4]) Deutsches Arch. f. klin. Med. 1902 Bd. 73.
[5]) Wien klin. Woch. 1892 No. 19 en 20.
[6]) Berl. klin. Woch. 1898.
[7]) Deutsche med. Woch. 1893 No. 11.
[8]) Zeitschr. f. Hyg. 1894 Bd. 18.

inspuiting.[1]) Het vinden van pathogene microörganismen post mortem in het bloed mag evenmin als een bewijs worden aangezien voor het bestaan van de gemengde infectie, omdat deze microben misschien eerst tegen het einde van het leven in de bloedbaan zijn gekomen. Juist bij het bestaande verschil van meening scheen het dus van belang om te trachten door het opsoninenonderzoek een oordeel te verkrijgen over deze kwestie, uitgaande van de regel van Wright, dat, waar de opsonische kracht van het bloedserum tegenover een bacterie van de normale afwijkt, mag worden aangenomen, dat dit microörganisme niet meer als saprophyt maar als pathogeen agens aanwezig is. De daarbij te volgen methode bestond hierin, dat ik het sputum van den patiënt verzamelde, microscopisch onderzocht, welke organismen behalve de tuberkelbacil daarin aanwezig waren, de gevonden bacteriën als reincultuur trachte te kweeken en tegenover deze de opsonische kracht van het bloedserum van den patiënt vergeleek met die van normaalserum.

Ik verzamelde telkens het sputum van 24 uur in goed schoongemaakte potjes, terwijl de patiënten zooveel mogelijk vóór de expectoratie den mond spoelden, volgens het voorschrift van Spengler in verschillende porties om rotting zooveel mogelijk te voorkomen, en om bij ongewenschte verontreiniging, b.v. door braaksel, niet alle sputa onbruikbaar te maken. Het sputum is echter zoo voor onderzoek op menginfectie ongeschikt, want op zijn weg door de bronchi en bovenste luchtwegen heeft zich een groot aantal bacteriën bij de oorspronkelijk uit de longhaarden afkomstige gevoegd; en misschien verklaart het feit, dat met deze omstandigheid

1) Sorgo Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 61 p. 250.

niet altijd rekening gehouden is, voor een deel het verschil in waardeering van de beteekenis der gemengde infectie. Om nu het sputum van deze bijmengingen te ontdoen hebben Koch[1]) en Kitasato[2]) aangegeven het tot 10 maal toe te wasschen in steriel water; deze methode heb ik ook toegepast. Een paar in filtreerpapier gepakte molglazen en eenige zeven worden gesteriliseerd; het sputum wordt dan in een van de molglazen met steriel water goed geschud. Wanneer dat flink troebel is geworden, wordt de geheele inhoud op de zeef gegoten, het met slijm en andere bijmengsels verontreinigde water vloeit af, en wat op de zeef achterblijft wordt opnieuw in een schoon molglas gegoten en aan dezelfde bewerking onderworpen. Dit wordt eenige malen herhaald, waarbij men natuurlijk steeds fijnere zeven moet gebruiken.

Bij deze behandeling vermindert de hoeveelheid sputum sterk; men houdt alleen de eigenlijke van alle slijm ontdane sputumklompjes over, die men nu met een steriele schaar fijn knipt, en onderzoekt dan eenige uit verschillende deelen van het sputum genomen stukjes microscopisch en door enting; op het belang van het nemen van verschillende sputumpartiekeltjes heeft Cornet reeds gewezen.

Vindt men in zoo behandeld sputum naast tuberkelbacillen nog andere microörganismen, dan mag men aannemen, dat deze werkelijk uit het zieke deel van de long afkomstig zijn (Spengler[3])).

Meermalen heb ik preparaten van het aldus behandelde sputum vergeleken met die van het in zijn oor-

---

[1]) Mitt. Kais. Ges. Amte. 1884.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. 1892 Bd. 11.

[3]) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 61 p. 250. en Zeitschr. f. Hyg. 1894 Bd. 18.

spronkelijken toestand gelatene, en steeds viel mij het groote verschil, zoowel wat het aantal microbenindividuën als wat het aantal der soorten van microörganismen betrof, op.

Voor het microscopisch onderzoek zijn twee kleuringen voldoende, één volgens Gram en één met een waterige methyleenblauwoplossing. Indien de praeparaten zeer dun gemaakt worden, is voor de eerste het beste om na fixatie in de vlam gedurende 5 min. carbolgentiaanviolet onder zachte verwarming te laten inwerken, dan 1 min. jood joodkalium (1 : 2 : 300) en te ontkleuren in alcohol 96 % 20 sec., terwijl nagekleurd wordt met slappe waterige fuchsine-oplossing; de verschillende vloeistoffen worden telkens met filteerpapier verwijderd, en water wordt vermeden, omdat anders kleurstofneerslagen de beoordeeling van het beeld op bedenkelijke wijze bemoeilijken. Een voordeel van deze kleuring is nog, dat de tuberkelbacil zich voordoet als een blauwzwart, fijn korrelig staafje met scherpe randen. Martin Herman[1]) beveelt haar dan ook ten sterkste aan; ze zou in vele gevallen zelfs te verkiezen zijn boven de methode van Ziehl.

Het microscopisch onderzoek wordt bevestigd en aangevuld door de enting, die in ons geval tevens diende om de bacteriënstammen te krijgen, noodig voor de opsoninenproeven. Daarvoor wordt met een steriele schaar een sputumklompje zoo fijn mogelijk geknipt, en dan steriele bouillon toegevoegd. Met een Drigalski'schen haak wordt alles nog eens goed gemengd en vervolgens de geïnfecteerde haak op de gewenschte voedingsbodems uitgestreken. Door den haak zonder hem eerst weer met sputum in aanraking te brengen, telkens op een nieuwen

---

[1]) Ann. de l'Inst. Past. 1908 p. 93.

bodem uit te strijken, wordt ten slotte het getal op den laatsten voedingsbodem gebrachte bacteriën zoo gering, dat ze afzonderlijk gelegen kolonies geven, geschikt voor determineering en overenting.

Na een tijd van probeeren ben ik er toe gekomen om voor dit gedeelte van het onderzoek steeds ascites-agar te gebruiken, waarop de meeste bacteriën, ook de meer gevoelige, als strepto- en pneumocokken goed groeien; bovendien is deze bodem helder en doorschijnend, zoodat het macro- en microscopisch onderzoek van de koloniën geen moeilijkheden ondervindt, terwijl de bereiding niet moeilijk is. Men heeft alleen den te voren in reageerbuisjes verdeelden agar (volgens gewoon voorschrift bereid) op te smelten en weer af te koelen tot 45° à 50° en voegt dan bij 4 cM³. agar 1,5 cM³. ascitesvocht.

Het ascitesvocht kan in kleine goed gesloten kolfjes op een koude en donkere plaats maanden onveranderd bewaard worden; lege artis wordt het met agar gemengd en in een Petri's schaaltje gegoten. Na afkoeling is de bodem gereed.

De andere bodems, die ik gebruikte voor het kweeken, komen ter sprake bij de beschrijving van de bacterieemulsies.

Op de boven beschreven wijze heb ik het sputum van een twaaftal patiënten onderzocht; bij allen vond ik behalve tuberkelbacillen den staphylococcus pyogenes, in 9 gevallen den diplococcus pneumoniae, in 2 gevallen streptocokken, in 3 gevallen den bac. Friedländer en in 1 geval bac. proteus. Van 6 gevallen heb ik ook langen tijd den index tegenover tuberkelbacillen bepaald om de in het eerste gedeelte vermelde statistiek zoo mogelijk met andere gegevens aan te vullen.

Alvorens de gevonden uitkomsten weer te geven, moet

ik nog eenige opmerkingen maken over het kweeken van de reincultures en het maken van de emulsies. De staphylococcus groeit op den ascites-agar buitengewoon goed en snel als ronde, witte (st. albus) of goudgele (st. aureus) kolonietjes met scherpe randen, die er bij zwakke vergrooting korrelig grijs of grijsbruin uitzien, meestal met een donkerder centrum; gelatine wordt vervloeid. Bij microscopisch onderzoek vinden wij Gram-positieve, in trossen samenliggende kokken. Voor de verdere overplanting gebruikte ik gewonen agar. Wil men een emulsie maken, dan giet men eenvoudig op de cultuur 2 cM^3. physiologische zoutsolutie, schudt even voorzichtig, waarna al voldoende troebeling optreedt; met de pipet neemt men de dikke emulsie af, en centrifugeert nu alle dikkere cultuurbrokjes naar den bodem. Door een voorproef, z.g. trial-trip, overtuigt men zich, dat de suspensie mooi homogeen is, en hoeveel zij verdund moet worden. Sommige stammen zijn wat meer samenhangend; dan schudt men de van de cultuur afgeschonken emulsie gedurende 1 uur in een schudmachine. Algemeen gezegd geeft de emulsioneering van de staphylocokken niet veel moeite.

De pneumobacil van Friedländer is eveneens gemakkelijk te herkennen. Op ascites-agar zien wij ronde, slijmige, grijswitte, bolvorming boven de oppervlakte uitstekende kolonies, die snel groeien en bij zwakke vergrooting er grijskorrelig en scherpbegrensd uitzien met een donkerder centrum. Bij het onderzoek van het sputum ziet men ze reeds als dikke, plompe Gramnegatieve bacillen, met ronde uiteinden, soms als diplo-bacillen, en wanneer de kleuring goed gelukt is met een duidelijke kapsel, die zij in de cultuur nooit vertoonen. In den hangenden druppel bezien zijn de staven onbeweeglijk. De gelatine wordt niet vervloeid; ze vormen, wanneer wij

een steekcultuur maken, de z.g. spijkercultuur. Gewonen bouillon maken ze spoedig troebel; er wordt geen indol gevormd. In glycose-bouillon zien wij behalve de troebeling spoedig gasvorming, door omzetting van de glucose, waarbij voornamelijk azijnzuur, Co_2 en H_2 ontstaan. (Frankland, Stanley en Frew)[1]). Op de gewone voedingsbodems laat de b. Friedländer zich zeer gemakkelijk kweeken met een neiging tot slijmvorming. Verder wordt steeds opgegeven, dat hij pathogeen is voor muizen, en bij genoegzame virulentie zelfs bij deze dieren septichaemie veroorzaakt, waarbij de bacillen met kapsels voorzien, gemakkelijk in het bloed zijn aan te treffen. Ik heb nu bij alle patiënten het gewasschen sputum bij witte muizen ingespoten; in de meeste gevallen was echter naast den bac. Friedländer ook de pneumococcus aanwezig, en voor dezen is de muis veel gevoeliger; ik vond dan ook in alle gevallen van septichaemie den pneumococcus als oorzaak. Beproefde ik met een cultuur van b. Friedländer muizen te infecteeren, dan gingen ze wel is waar soms dood, maar in geen enkel geval vond ik een echte septichaemie met bacillen in het bloed; door de overenting was blijkbaar de virulentie te veel afgenomen. Ze komen ook als saprophyten voor, speciaal in de naso-pharyngeaal-holte (in 4½ % in de mondholte (Netter), in 50 % in de naso-pharygeaal-holte (Hasslauer)).

In alle gevallen, waarin op de plaat cultures van pneumocokken opkwamen, zag ik de muizen vroeger of later bezwijken aan septichaemie. Gemakkelijk vindt men dan in het bloed de gekapselde lancetvormige microben; uitstrijken van een druppeltje bloed en kleuring volgens May-Grünwald zijn voldoende. En ook tot het verkrijgen

---

[1]) Koch's Jahrb. f. Gährungsorgan. 1891 p. 234.

van een reincultuur is de passage door muizen bijzonder geschikt. Men spant het doode diertje op, opent onder aseptische voorzorgen het hart, neemt met een platinanaald daaruit een spoortje bloed en strijkt dit op den voedingsbodem uit; na 24 uur heeft men een reincultuur. Op den ascites-agar zijn pneumo- en streptocokken-culturen niet altijd gemakkelijk te onderscheiden. Beiden groeien als zeer kleine, ronde, afzonderlijk liggende kolonietjes; die van den pneumococcus mogen meer doorschijnend zijn, die van den streptococcus meer fijne witte stipjes op de plaat vormen, vooral als wij nagaan, dat beide Grampositief zijn, en de gelatine niet vervloeien, hebben wij betere onderscheidingsteekens noodig.

In bouillon geeft de streptococcus een zeer karakteristieke cultuur: de vloeistof blijft helder, en op den bodem zakt een bezinksel, dat uit zeer lange ketens bestaat. De pneumococcus is daarentegen een diplococcus, waarvan de naar elkaar toe of van elkaar afgekeerde einden toegespitst zijn (vlamvorm), maar in vloeibare voedingsbodems en ook in het condensatiewater van vaste bodems, kan hij in kettingen groeien, die evenwel meestal korter zijn dan die van den streptococcus. In tegenstelling met den boven beschreven vorm van den pneumococcus is bij den streptococcus de dwarsche afmeting gewoonlijk grooter dan de lengte en kunnen de individuën onderling zeer veel in grootte verschillen. Dan zij vermeld, dat de laatste meer voor het konijn, de eerste meer voor de witte muis pathogeen is. De kapsel mag niet als een constant onderscheidingsteeken genoemd worden, omdat sommige virulente streptocokken zich ook met kapsels kunnen voorzien (Bordet). Ten slotte is een uitstekend middel om ze van elkaar te onderkennen het gedrag tegenover gal. Neufeld

had al gezien, dat toevoeging van konijnengal aan een 24 uur oude bouilloncultuur van pneumocokken deze snel opheldert, en dat verdere overplanting uit die cultuur mislukt. Nicolle en Adil-Bey[1]) zagen dat ook virulente stammen door ossengal opgelost worden. streptocokken worden niet opgelost. Door warmte gedoode diplocokken laten zich minder goed oplossen en sommige individuën bieden ook in levenden toestand weerstand. Konijnengal is werkzamer dan ossengal, maar met de laatste is het verschijnsel in 't algemeen uitstekend te zien. Ik zelf heb ook ossengal gebruikt, en kan gerust met Nicolle en Adil-Bey zeggen: „Nous sommes portés à considérer cette solubilité comme constituant le caractère le plus saillant du pneumocoque." Ik vermeldde ook, dat ik eenmaal een bacil reinkweekte, waarbij ik de diagnose op bac. proteus stelde. Geheel zeker was ik niet, ik maakte een waarschijnlijkheidsdiagnose op de volgende kenmerken: ik vond een korten Gramnegatieven bacillus, die bewegelijk was, gelatine snel vervloeide, duidelijk indol vormde en op alle media gemakkelijk groeide als een melkachtigwitte vette samenhangende cultuur. Ik heb er overigens niet veel gewicht aan gehecht en maar éénmaal den index van den patiënt tegenover deze microben bepaald.

Ik besprak vroeger reeds de manier, om met pneumo- en streptocokken emulsies te maken. Met de eerste heb ik zeer goede resultaten gekregen, met de laatste zeer slechte. Ik neem aan, dat met stammen, die in korte ketens groeien, goede emulsies te maken zijn, in mijn beide gevallen gelukte het mij bijzonder slecht; herhaaldelijk viel door het mislukken van de suspensie de geheele proef in 't water. Gebleken is mij ook, dat

---

[1]) Ann. de l'Inst. Past. 1907 p. 20.

sommige stammen nog om andere reden ongeschikt zijn voor opsonisch werk. Men ziet n.l. dikwijls, dat de grootte der individuën onderling zoo sterk verschilt, en de vorm zoo atypisch is, dat men in een praeparaat soms moeilijk kan uitmaken of men met echte kokken te doen heeft of met verontreinigingen. Hiertoe draagt ook niet weinig bij, dat de kleurbaarheid zeer verschilt en sommige microben (involutievormen?) ongelijkmatig kleurstof opnemen. Ik heb in dit opzicht weinig ervaring, aangezien ik slechts tweemaal streptocokken vond, maar de bepalingen hebben mij toen zooveel moeite gekost, dat deze bij de dikwijls onzekere resultaten niet beloond werd.

Bovendien moest ik telkens versche emulsies bereiden; bewaarde ik ze in de ijskast na sterilisatie, dan was vaak de kleurbaarheid zoodanig afgenomen, dat ze onbruikbaar geworden waren. Het verwondert mij dan ook zeer, dat Schiffman en Kohn[1]) opgeven hun streptocokkensuspensie, die ze maakten van 24 uur oude agarculturen, gedurende 12 dagen goed te kunnen houden; in elk geval gaat dit niet voor alle stammen op. Ik heb zelfs meermalen ook bij sommige staphylocokkenstammen opgemerkt, dat verhitting en bewaren de bacteriën veel minder kleurbaar maakt.

Behalve de boven opgesomde moeilijkheden ontmoet men vele streptocokken- en pneumocokkenstammen, die op gewonen agar slechts langzaam en moeilijk groeien, zoodat men na 24 uur nog niet genoeg heeft om een emulsie te maken. Deze moeilijkheid ben ik grootendeels te boven gekomen door te kweeken en te bewaren op konijnenbloed-aardappel-agar. Hierop groeien beide uitstekend en blijven lang in leven; het is mij b.v. gelukt een pneumococcus in de koude, in het donker 2 maanden

---

[1]) Wien. klin. Woch. 1909 p. 82.

zonder overplanten in leven te houden. De bereidingswijze is de volgende:

Men neemt gelijke deelen 4 % glycerine-water en stukjes aardappel, dit laat men 15 à 30 min. in de autoclaaf op 115° C. staan, schenkt de bovenstaande vloeistof af, en doet bij één deel van deze 3 deelen physiologische zoutsolutie (0,85 %); eindelijk voegt men bij 100 gram van dit mengsel 2,5 gram agar-agar; hierna op de gewone wijze steriliseeren in de autoclaaf; ten slotte verdeelt men in buisjes (ongeveer 3 cM³. per buisje) en steriliseert nogmaals.

Wanneer men nu het bloed daarbij wil doen, smelt men de buisjes op, laat die tot 45° à 50° C. afkoelen en zet ze in een waterbad van die temperatuur. Men vangt nu het bloed uit de a. carotis van een konijn op in steriele kolven en defibrineert het door schudden met glaskraaltjes, neemt dan één voor één de buisjes uit het waterbad en doet bij elk, door middel van een gesteriliseerde pipet ½ c.M³. bloed, mengt lege artis en legt nu het buisje scheef; de inhoud stolt spoedig en de bodem is gereed. Door de buisjes een dag bij 37° te plaatsen, overtuigt men zich, dat ze steriel zijn; ze kunnen lang in donker in de koude bewaard worden. Niet alleen, dat genoemde kokken hierop gemakkelijk groeien, maar ze behouden ook lang hun virulentie, wat voor het opsoninonderzoek niet altijd gunstig is. Later zal ik hierop nader ingaan naar aanleiding van het feit, dat virulente pneumocokken dikwijls opsoninvast zijn en bij lang op deze bodems blijven hun virulentie niet verminderen. Dit is natuurlijk te verhelpen door ze op andere bodems eerst te verzwakken en daarna voor de opsonische proeven weer op bloedaardappelagar over te planten.

Ik kan nu overgaan tot de mededeeling van mijn resultaten; voor de numeroteering zie Tabel op pag. 93.

No. 21 Eug. Sch. ♀ 19 j.; beiderzijds topcatarrh; geeft veel op; algemeene toestand goed; geen koorts. Sputum bevat tub. bac. en groepjes kokken, die zich volgens Gram kleuren; verder lange diplocokken, hier en daar in ketenvorm. Een witte muis met sputum onderhuids ingespoten, sterft na 2 dagen; in bloed worden noch microscopisch noch door enting diplocokken gevonden. Door directe kweeking uit het sputum kreeg ik alleen staphylococcus.

2 maal werd de index tegenover tub. bac. bepaald { I = 0,65 / I = 0,73

de diagnose tuberculose werd dus bevestigd.

3 maal werd de index tegenover staphylocokcus bepaald { I = 1,4 / I = 1,46 / I = 1,25

Pat. werd in goeden toestand ontslagen.

Volgens Wright zou hier dus een werkelijke infectie met staphylocokken hebben plaats gehad, waartegenover het lichaam heeft gereageerd met hoogen opsonischen index.

No. 22. Mej. v. G. ♀ 19 j.; infiltraat der rechter bovenkwab met caverne.

Algemeene toestand is tamelijk goed; geen vermagering. Pat. heeft gedurende haar verblijf maar éénmaal verhooging tot 38.4 gehad; overigens is de temperatuur normaal, soms 's avonds subfebriel.

Het sputum bevat tub. bac.; verder Grampositieve kokken, hier en daar lange ketens van kokken. 2 muizen sterven aan pneumocokken-septichaemie. Verder kweekte ik staphylococcus, pneumococcus en streptococcus. Tegenover tub. bac. heb ik gedurende geruimen tijd den index bepaald, deze was:

Maart { I = 1,1 / I = 1,5 / I = 0,56 / I = 0,57 — April { I = 0,74 / I = 0,95 / I = 0,75 / I = 0,79 — Mei { I = 0,9 / I = 0,78

Slechts éénmaal was hij te hoog (I = 1,5), misschien heeft toen een autoinoculatie plaats gehad, en onderzocht ik juist gedurende de positieve phase.

Overigens beantwoordt de kromme geheel aan die van een betrekkelijk gelocaliseerd proces, vanwaar uit de toxinresorpsie gering is, getuige ook de algemeene toestand.

Ten opzichte van den staphylococcus heb ik gedurende 2 periodes, met een tusschenpoos van 8 maanden, waarin zij naar huis geweest was, den index bepaald en toen zeer merkwaardige verschillen gevonden.

Indexbepaling tegenover staphylococcus:

1e periode.			2e periode.	
Juli	I = 1		Maart	I = 1,52
	I = 0,72			I = 1,67
	I = 0,66	0,649	April	I = 2,15
	I = 0,649	0,76		I = 3,6
	I = 0,70			

De index blijft in elk der beide perioden constant, maar in de eerste was hij steeds te laag, in de tweede steeds te hoog.

Uit de kromme zou krachtens de voorstelling van Wright volgen, dat patiënt reeds bij haar eerste verblijf in 't gasthuis door staphylocokken geïnfecteerd was, maar niet voldoende reageerde. In de 2de periode heeft ze een verhoogden index gekregen, juist als na de genezing van een plaatselijk staphylocokkenproces. Van een verbetering van den toestand was evenwel niets te bemerken; het longproces was stationnair, en steeds werden staphylocokken in het sputum gevonden. Inderdaad echter beschouw ik de laatste twee waarden I = 2,15 en 3,6 als foutief, waarschijnlijk tengevolge hiervan, dat op die dagen haar bloedserum de roode bloedlichaampjes van de cream agglutineerde. Dit verschijnsel van agglutinatie der erythrocyten door het serum van een individu van dezelfde species is dikwijls waargenomen en heet isoagglutinatie. Dudgeon[1]) zag het herhaaldelijk bij lijders aan febris typhoidea en aan tuberculose; dikwijls gaat het gepaard met isohaemolyse, en beide processen, maar vooral de isohaemolyse, zouden vaak in gevallen met ernstige prognose voorkomen. Ook bij acute pneumonie (Shattock) en bij roodvonk (Grünbaum) wordt het waargenomen[2]). En hiermede vestigen wij de aandacht op een nieuwe moeilijkheid,

[1]) Proc. Roy. Soc. Vol. 80 p. 531 en Proc. Roy. Soc. Vol. 81 p. 207.
[2]) Geciteerd naar Dudgeon.

die de bruikbaarheid der methode niet ten goede komt, want de isoagglutinatie kan de preparaten onbruikbaar en de resultaten onbetrouwbaar maken. Naar dit laatste heeft Fleming[1]) een onderzoek ingesteld, en gevonden, dat de index steeds te hoog wordt, dikwijls tot 2 à 3 maal toe[2]). Macroscopisch ziet men reeds, dat de uitspreiding door het verlies van homogeniteit van den droppel niet meer gelijkmatig is, microscopisch neemt men groote klompen saamgekleefde erythrocyten waar, en de leucocyten vindt men niet aan den rand, maar ten deele zijn zij door de erythrocyten ingesloten, ten deele hebben deze geagglutineerde roode bloedlichaampjes tijdens het uitstrijken verhinderd, dat ze zich aan den rand van den uitspreider vasthechtten en in de randzone aankwamen; men vindt ze meer door het geheele preparaat verspreid; de telling is dus zeer bezwaarlijk geworden. Opmerkelijk is verder, dat de isoagglutinatie bij denzelfden patiënt niet voortdurend aanwezig en niet steeds even sterk is. Bij het mengen van den droppel herkent men het verschijnsel al met het bloote oog; is het zeer sterk, dan kan men gerust van voortzetting van het onderzoek afzien. Ik heb het serum van deze patiënte op een dag, dat er sterke isoagglutinatie was, tegenover 3 verschillende creams van menschenbloed onderzocht en gevonden, dat het verschijnsel zich in alle 3 gevallen openbaarde.

Tegenover pneumococcus bepaalde ik den index 2 maal $\left\{\begin{array}{l} \text{I} = 1{,}96 \\ \text{I} = 1{,}11 \end{array}\right.$ en vond . . . . . .

Tegenover streptococcus bepaalde ik den index 2 maal $\left\{\begin{array}{l} \text{I} = 0{,}79 \\ \text{I} = 0{,}75 \end{array}\right.$ en vond . . . . . .

---

1) Practitioner, May 1908.

2) Strübell en Felber erkennen ook den invloed der isoagglutinatie, maar de fout is volgens hen niet groot (de grootste afwijking die zij kregen was 0,5) Centr. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 52 p. 406.

No. 24. H. ♂ 59 j., infiltraat der rechter bovenkwab met caverne. Algemeene toestand vrij goed, geen koorts; tijdens zijn verblijf 2 aanvallen van haemoptoë, die afebriel verliepen. Sputum: tub. bac.; verder bijna uitsluitend Grampositieve kokken, waarvan sommige in korte ketens liggen. Hier en daar gevlamde, met kapsels voorziene diplocokken; ook zijn aanwezig kleine staafjes of kokken, die Gramnegatief zijn. 2 muizen, ingespoten met sputum, sterven aan pneumocokkenseptichaemie. Om de mogelijke aanwezigheid van streptocokken verder te onderzoeken, werd een konijn intraperitoneaal geënt met sputum; dit stierf na 24 uur, en uit het hartebloed kreeg ik een reincultuur van pneumococcus.

Op den ascites-agar komt op staphylococcus, pneumococcus en de Gramnegatieve bacil, bij welken ik, zooals ik vroeger vermeldde, de waarschijnlijksdiagnose b. proteus stelde.

Uitkomst van de opsoninbepalingen:

Tegenover tub. bac. I = 0,79; tegenover staph. I = 0,84; tegenover pneumococcus I = 0,48; tegenover proteus (?) I = 1,75. In al deze gevallen kon dus al bij eerste onderzoek (behalve ten opzichte van den staphylococcus) tot een infectie besloten worden. Bij de laatste bepaling merkte ik op, dat de in de cellen gelegen microben, vergeleken met de er buiten gelegene slecht kleurbaar waren, wat de zuivere telling zeer bemoeielijkte.

No. 25. B. ♀ 22 j.; infiltraat van de rechter boven- en middenkwab met cavernen; links infiltraat der bovenkwab. 't Proces is progedient, de algemeene toestand achteruitgaand, 's avonds koorts. In het sputum tuberkelbacillen, staphylocokken en pneumocokken.

Tegenover tub. bac. was de index van Sept. tot Mei:

I = 0,72	I = 1,71
I = 0,59	I = 0,47
I = 0,44	I = 0,7
I = 0,71	I = 0,75
I = 0,82	I = 0,50

De curven van den index tegenover staphylocokken heeft even-als bij patiënte v. G. een eigenaardig verloop v. Aug. tot Mei:

I = 0,89	I = 1,669
I = 0,54	I = 1,08
I = 0,78	I = 1,8
I = 0,92	

Ondanks den achteruitgang van patiënte stijgt de index, maar ook hier heb ik, hoewel in veel mindere mate, nu en dan last gehad van isoagglutinatie. Ten deele moet misschien de verhooging op rekening van deze gesteld worden; toch geloof ik

niet, dat zij veel invloed heeft gehad. Men ontmoet echter grensgevallen, waar men in 't onzekere blijft of de betrouwbaarheid der uitkomst werkelijk hiervan te lijden heeft.

Tegenover pneumococcus bepaalde ik den index tweemaal en vond resp. I = 1,6 en I = 1,1.

No. 27. St. ♂ 27 j.; links phthisis fibrosa, cavernen in bovenkwab; rechts phthisis fibrosa der bovenkwab. Klinisch de typische phthisis met hectische koorts, nu en dan haemoptoë; onder voortdurenden achteruitgang van den algemeenen toestand en verschijnselen van darmtuberculose en amyloïed succumbeerde patiënt; in sputum tub. bac. gevonden; verder uit sputum staphylo- en streptocokken gekweekt.

Den tuberculo-ops. index onderzocht ik van Februari tot Mei en kreeg de volgende waarden . . . . { I = 1 ; I = 0,88 ; I = 0,64 ; I = 0,84

ondanks snelle achteruitgang van het proces vond ik meer dan eenmaal een normalen index.

Tegenover staphylocokken onderzocht ik patiënt in Sept. en Oct., de index was toen 1.5 en 1,32; van Maart tot Mei, toen de toestand zeer verergerd was, bedroeg de index 0,68, 1,18 en 0,94.

Twee mogelijkheden doen zich voor: 1°. door den achteruitgang daalt de index, en 2°. steeds heeft door opname van toxinen (autoinoculaties) de index in positieve en negatieve phasen geschommeld en heb ik in de eerste periode meer de positieve, in de tweede meer de negatieve aangetroffen.

Tegenover streptocokken vond ik den index in beide onderzoekingen laag: I = 0,7 en I = 0,67.

No. 28. C. 21 j.; rechts infiltraat van de bovenkwab met cavernen; tijdens verblijf op de kliniek perioden van hectische koorts. Algemeene toestand slecht, vermagering en anaemie. In het sputum tub. bac., staphylocokken en Friedländersche bacillen.

Tegenover tub. bac. . . . . { I = 0,61 ; I = 0,74 ; I = 0,72

Tegenover staphyloc. . . . . { I = 1 ; I = 1,44

Tegenover pneumobac. Friedländer. . { I = 0,52 ; I = 0,59

Ook hier heb ik weer kennis gemaakt met een technische moeielijkheid, die het onderzoek met den bacil

van Friedländer kenmerkt. Eenmaal door de leucocyten opgenomen zwelt hij op, verandert van vorm en de kleurbaarheid neemt af; na korten tijd vindt men in de leucocyten alleen een zich eenigszins anders kleurende vlek als overblijfsel van den bacil; tusschen dit uiterste en den normalen microbe ziet men dan alle overgangen. Later heb ik dit euvel zooveel mogelijk vermeden door dikkere emulsies te nemen en wat korter (5 à 8 minuten) in de stoof te plaatsen, maar het is de vraag of dan de uitkomsten even zuiver zijn. Opmerking verdient het ook, dat de pneumobacil door kleine invloeden zijn eigenschappen verandert, wat zich ook morphologisch uit. Zoo ziet men in oudere culturen veel korte en kleine individuën, die zelfs op cokken beginnen te lijken, wat in de preparaten de telling bedenkelijk bemoeilijkt. Zonder twijfel gaat hiermede een virulentieverlies gepaard; zij zullen gemakkelijker door de phagocyten ook zonder behulp van serum opgenomen worden; en het is dus twijfelachtig of resultaten, die met groote tusschenpoozen met den inmiddels verzwakten stam verkregen zijn, zonder meer mogen vergeleken worden.

No. 29. R. ♂ 37 j.; diffuus proces, dat jaren bestaat en stationair is; algemeene toestand vrij goed: tijden van koortsvrij verloop wisselen af met perioden van lichte avondverhooging.

Tuberkelbacillen in sputum. Verder kweekte ik staphylo-, pneumocokken en pneumobac. Friedländer. Bij dezen patiënt verrichtte ik niet veel bepalingen. Het opmerkelijke is, dat hij tegenover alle infecteerende agentia normale opsonische kracht had.

Tegenover tub. bac. . . . . { I = 1 / I = 1

Tegenover staphyloc. . . . . { I = 1 / I = 0,85

Tegenover pneumoc. . . . . { I = 1,12 / I = 1,1

Tegenover bac. Friedländer . . . . I = 1,19

No. 30. T. ♀ 28 j.; infiltraat en caverne in linker bovenkwab; progrediënt proces, febris hectica. Algemeene toestand ging snel achteruit en patiënte succombeerde in de kliniek.

In sputum tub. bac. Gekweekt uit sputum staphylo- en pneumocokken, en bac. Friedländer. Ondanks het snel voortschrijdende proces is alleen tegenover tub. bac. de index verlaagd.

Tegenover tub. bac.	I = 0,57
Tegenover staphyloc.	I = 1,11 I = 1,14
Tegenover pneumoc.	I = 1,12 I = 1,23
Tegenover bac. Friedländer	I = 1,23

en valt het onderzoek evenals het vorige wat betreft de diagnostische beslissing tegenover de menginfectie negatief uit.

No. 31. K. ♂ 27 j. lobulaire infiltraten in de rechter bovenkwab, topcatarrh van de linker long. Pat. die ondanks een sanatoriumkuur achteruit ging, steeds koortste, is hier aanmerkelijk verbeterd na een tuberculinekuur. Sputum bevat tuberkelbacillen.

Pat. werd met tuberculineinjecties behandeld en nu kon ik prachtig de negatieve phase waarnemen; tegelijkertijd bepaalde ik met hetzelfde serum den index tegenover staphylo- en pneumocokken, die ik uit het sputum had gekweekt; ik kon daarbij opmerken, hoe vooral de curve van den staphylocokken-index niet door de behandeling werd beïnvloed.

De geheele uitkomst was aldus

Tegenover tub. bac.	I = 0,709 I = 0,69 I = 1 I = 0,58 I = 0,74 I = 0,87
Tegenover staphyloc.	I = 1 I = 1 I = 0,73 I = 1 I = 0,93
Tegenover pneumoc.	I = 1,31 I = 0,56 I = 1,15 I = 1

Het verloop van de indexkrommen vóór en na de tuberculine injectie, is in zijn geheel weergegeven, aldus:

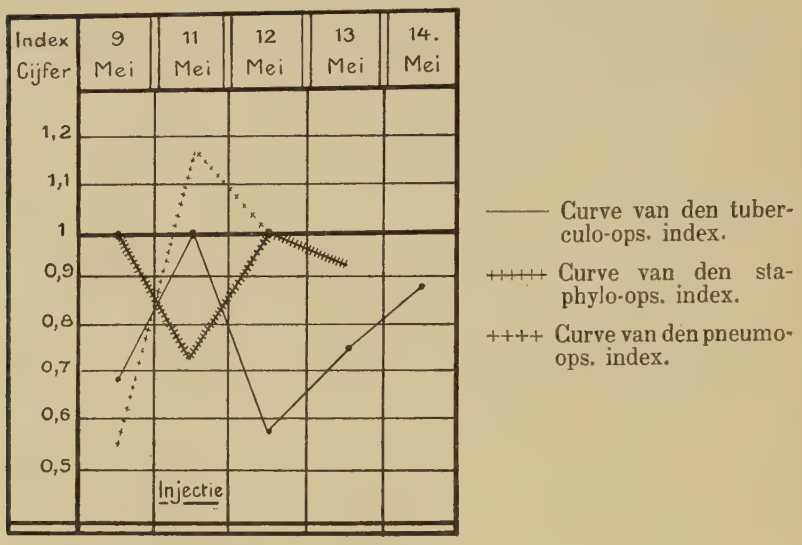


Fig. A.

Opgemerkt dient te worden, dat slechts in één van 5 bepalingen tegenover staphylocokken de index afwijkend was.

No. 32. d. O. ♂ 45 j. infiltraat der rechter long met caverne in de bovenkwab; linker onderkwab geinfiltreerd. Progrediënt proces. Febris hectica. Algemeene toestand slecht; vermagering.

Deze patiënt had dikwijls avondverhooging tot 39.4; ondanks deze omstandigheid zijn alle indices regelmatig laag. Van autoinoculatie zag ik niets, ofschoon ik de gelegenheid had de patiënt lang te vervolgen. Heel gemakkelijk valt het daarentegen uit die curven, vooral die van den tuberculo-opsonischen index de diagnose te maken. Ik laat hier de uitkomsten volgen:

Tegenover tub. bac. (gedurende 3 maanden)	I = 0,59	I = 0,35
	I = 0,7	I = 0,60
	I = 0,62	I = 0,57
	I = 0,62	I = 0,48
	I = 0,40	I = 0,61
	I = 0,54	

In de curve is het ziektenverloop geenszins uitgedrukt. Hetzelfde kan gezegd worden over de curve van den staphylo-opsonischen index, die aldus is:

Tegenover Staphyloc. . . . . I = 0,76
I = 0,84
I = 0,76
I = 0,70
I = 0,50
I = 1
I = 0,61

Tegenover pneumocokken waren de indices als volgt:

Tegenover Pneumoc. . . . . I = 0,46
I = 0,81
I = 1

No. 33. K. ♂ 21 j. in beide pulmonen infiltratie met cavernen; later complicatie met darmtub., sterk progrediënt proces; febris hectica; vermagering; onder voortdurenden achteruitgang succombeerde pat. in de kliniek.

Ook hier was de index regelmatig verlaagd tegenover tub. bac. (gedurende 3 maanden) . . . . . I = 0,51
I = 0,85
I = 0,68
I = 0,76
I = 0,64
I = 0,6
I = 0,62
I = 0,61
I = 0,58

Tegenover pneumoc. (gedurende 3 maanden) . . . I = 0,89
I = 1,54
I = 0,89
I = 0,55
I = 0,94
I = 0,74

Tegenover staphyloc. (gedurende 3 maanden) . . . I = 0,87
I = 0.83
I = 0,61
I = 1,18
I = 0,76
I = 0,43
I = 0,8
I = 0,88

Hier is uit de indexkromme het ziekteverloop volstrekt niet af te lezen; ik heb er trouwens vroeger al op gewezen, hoe

éénzijdig het standpunt van Wright c.s. is, om uit het opsonisch gehalte alleen te willen besluiten tot den immuniteitsgraad.

Tevens wijs ik hier op de omstandigheid dat van de 6 bepalingen van den pneumo-opsonischen index deze maar 3 maal abnormaal is, van de 8 bepalingen van den staphylo-opsonischen index eveneens slechts 3 maal.

No. 34. Br. ♂ 25 j. Diabetes mellitus en tub. pulm., beiderzijds infiltraat met caverne in de rechter bovenkwab. In sputum tub. bac.; staphylo- en pneumocokken. Progrediënt proces; voortdurende gewichtsafname, koorts; pat. overleed in de kliniek. De tub. ops. kromme gaat geheel tegengesteld aan het klinische verloop.

De tuberculo-opsonische indices waren { I = 0,71 | I = 0,73 | I = 0,9 | I = 1 | I = 1 | I = 0,75 | I = 1,11

De staphylo-opsonische. . . . . { I = 0,93 | I = 1,18 | I = 1,36 | I = 1,41 | I = 0,97 | I = 1,52

De pneumo-opsonische . . . . . { I = 1,3 | I = 1,06 | I = 0,87

De kromme van den staphylo-opsonischen index is meer op en neer gaande en wijst dus meer op toxin-resorpsie.

Tegenover pneumocokken was de index maar éénmaal van de 3 bepalingen te hoog.

In 't algemeen heb ik dus gevonden, dat ten opzichte van tuberkelbacillen en van de uit het sputum gekweekte andere microben het bloed een van de norm afwijkende opsonische kracht heeft, zoodat wij mogen besluiten, dat deze werkelijk als pathogeen moeten aangezien worden. Maar uit de tabellen volgt ook, dat men van de methode van de opsoninbepaling niet te hooge verwachtingen mag koesteren. Dikwijls toch bleek, dat

één, ja zelfs twee bepalingen onvoldoende zijn. De beschouwing van de langere krommen toont verder duidelijk, dat de verzekering van Wright, dat het mogelijk is om prognostische gegevens te krijgen met zijn methode, zeker overdreven is. Bij sterk progrediënte tuberculose zag ik constant lagen index. In doodelijk verloopende gevallen zooals van St. (No. 27), Br. (No. 34), d. O. (No. 32), K. (No. 33) is uit de opsoninencurve de gang van het proces in het geheel niet te lezen, en ik beschouw dan ook de door Wright gegeven voorbeelden als echte paradegevallen. En al doende heb ik ook reeds eenige technische bezwaren medegedeeld, die maken dat het opsoninonderzoek tot de zeer bezwaarlijke onderzoekingen behoort. Alleen de bepaling van den tuberculo-opsonischen index geeft naar mijn ervaring ten slotte nog de meeste zekerheid. Men heeft hierbij te doen met een bestendig reagens, de emulsie van doode bacillen, die men steeds in voorraad heeft, die na eenige oefening zeer goed is te bereiden, en zich met de noodige voorzorg best laat bewaren en behandelen.

Ik heb ten slotte nog gelegenheid gehad bij eenige gevallen van pleuritis en peritonitis exsudativa de diagnostische waarde van het opsoninonderzoek na te gaan. Vroeger heb ik reeds medegedeeld, dat volgens Wright[1]) het weefselvocht ter plaatse van de infectie een geringer opsonisch vermogen heeft dan het bloedserum, en dat hij in dien „plaatselijk verminderden bacteriotropen druk" juist de reden zag, waarom de infectie vasten voet had gekregen.

Is b.v. de tuberkelbacil de oorzaak van een locale infectie, dan zal de opsonische index van het exsudaat lager zijn dan die van het bloedserum van den patiënt,

---

[1]) Wright, l. c. p. 103.

hetzij deze laatste binnen of buiten de normale grenzen valt. Wright beweert op deze wijze onfeilbare diagnosen gemaakt te hebben en werkelijk is bij hem naast vele niets zeggende voorbeelden (men zoekt vergeefs naar bacteriologische en cytologische contrôle), een enkel treffend geval te vinden, waar het onderzoek na den dood de diagnose bevestigde. Zoo haalt hij een voorbeeld aan van het onderzoek van een ascitesvocht, waar de diagnose op peritonitis tuberculosa was gesteld. Hij onderzocht de tuberculo-opsonische indices van bloed en exsudaat en vond den eersten keer resp. I = 1,05 en I = 0,99, zoodat hij meende tuberculose te mogen uitsluiten. Daar de klinische symptomen en het bij operatie gevondene hiermede niet overeenstemden, besloot hij nogmaals te onderzoeken, en vond toen I bloed = 1, I ascitesvocht = 1. Hij bleef dan ook bijzijn eerste opvatting, en toen eenige weken later dit geval ter sectie kwam, bleek het een miliair carcinoom te zijn.

Zelf heb ik bij tien patiënten den tuberculo-opsonischen index van exsudaten bepaald; bij zes was de diagnose op pleuritis tuberculosa gesteld, twee maal was zij onzeker, terwijl zij in de twee andere gevallen anaemia perniciosa en cirrhosis hepatis met nephritis was.

36. Pat. O. ♀ 25 jaar, gehuwd, 2 gezonde kinderen. Zij was steeds gezond, heeft zonder bekende oorzaak pijn in de rechterzij gekregen, vooral bij ademhaling. Geen benauwdheid of hartkloppingen. Ze had nimmer haemoptoë, hoestte nooit. Ze is in den laatsten tijd erg vermagerd, en heeft koorts.

Door punctie werd 350 cM³. helder exsudaat uit de rechterzij afgetapt, dat direct stolde. Een gedeelte werd in citras natricus opgevangen en bleek bij microscopisch onderzoek bijna alleen lymphocyten te bevatten. 2 cavia's werden met het vocht ingespoten en glycerine-aardappelculturen gemaakt, die echter niet opkwamen. Na 25 dagen werden de cavia's gedood; beide leden aan algemeene tuberculose.

10 dagen later werd patiënte opnieuw gepuncteerd en ook de tweede maal was celformule van het exsudaat lymphocytose.

De uitkomsten van het opsonisch onderzoek waren als volgt: bij de 1e punctie: I. v/h. bloedserum = 1,22. I. v/h. exsudaat = 1,22
„ „ 2e „ „ „ „ = 1,1 „ „ „ = 0,96
Volgens Wright zouden wij hier dus niet met tuberculose te doen gehad hebben.

35. Pat. H. ♂ 45 j. Sinds 1/2 jaar heftige pijn in de linkerzij, hij hoest, geeft op, is kortademig, heeft geen eetlust en is sterk vermagerd, in rechter bovenkwab wordt een lobulair infiltraat gevonden en in de linker pleura een exsudaat. Het sputum bevat tub. bac.

2 malen werd gepuncteerd; beide keeren werd een helder geel vocht verkregen, waarvan de cellen bijna alle lymphocyten waren.

Een dag vóór de 1e punctie vond ik den tuberculo-opsonischen index van het bloed 0,68, den dag der punctie dien van het bloed 0,60, dien van het exsudaat 0,46.

Na 3 weken stierf de cavia, die met het exsudaat was ingespoten, aan tuberculose.

Bij de 2e punctie was voor het bloed: I = 0,82; voor het exsudaat I = 0,62; hier bevestigt dus het opsonisch onderzoek de diagnose tuberculose.

37. Pat. W. H. ♂ 32 j. Pat. komt binnen met klachten over steken in de rechterzijde, die langzamerhand zonder bekende oorzaak zijn begonnen; pat. is kortademig, hoest niet en geeft niet op; sterk nachtzweet, avondtemperatuur tot 37,9.

Er werd punctie verricht, waarbij helder sereus vocht ontlast werd, waarin bijna uitsluitend lymphocyten voorkwamen.

Van de 2 ingespoten cavia's overleed één aan tuberculose.

Het opsonisch onderzoek gaf als index van het bloedserum 1,05, van het exsudaat 1,02. Het resultaat van het onderzoek was dus negatief.

38. Pat. v. d. V. ♀ 49 jaar. Haar klachten zijn pijn in de zij en kortademigheid, die 1/2 jaar bestaan en langzamerhand zijn begonnen; nu en dan hoest pat. en geeft zij op. Koorts. Op 34-jarigen leeftijd had ze 12 kinderen.

Bij punctie werd helder vocht ontlast, dat direct stolde, en dat voornamelijk roode bloedlichaampjes en lymphocyten bevatte. Van het vocht werd op glycerine-aardappel geënt, waarop na 5 weken kolonies van tub. bac. opkwamen.

De index van het bloedserum was 0,8, die van het exsudaat 1,3.

Er was in het phagocytaire mengsel een klein stolseltje, waarop ik aanvankelijk geen acht had geslagen; waarschijnlijk is daardoor het resultaat niet te vertrouwen. Ook zou het mogelijk zijn

dat het exsudaat is ontstaan op een tijd, dat de index van het bloedserum hoog was. Wright[1]) zelf heeft deze verklaring gegeven over een geval van tuberculeuze polyserositis, waarbij hij voor het bloedserum den index = 0,7, voor het pleura-exsudaat = 1, voor het peritonitische exsudaat = 0,28 vond.

39. Pat. F. ♂ 21 j., kreeg voor vier maanden pijn in de keel en de linkerzij, begon te hoesten en op te geven, kreeg koorts, verloor den eetlust en vermagerde. Rechts werd een lobulair infiltraat van de geheele long gevonden, links werd een exsudaat in pleura gediagnostiseerd. Het sputum bevatte tub. bac.

Er werd punctie verricht, waarbij een helder geel vocht ontlast werd, de celformule van het vocht was: lymphocytose.

Vermeld dient te worden dat in het exsudaat met de sedimenteering-methode van Spengler[2]) tuberkelbacillen werden gevonden, de tuberculo-opsonische index van het bloedserum was = 0,77, die van het exsudaat = 0,76.

Een verschil in bacteriotropen druk is hier niet aanwezig. Overigens is de waarde van den index maar even onder de physiologische grens.

40. Pat. Kr. ♀ 41 j., werd verleden jaar ziek met hoesten en opgeven. Spoedig kreeg ze koorts, zij zweette veel en vermagerde sterk. Rechts werd in de bovenkwab een infiltraat gevonden en links enkele lobulaire haardjes in de bovenkwab, en een exsudaat in de linker pleuraholte. Het sputum bevat tub. bac.

Ze werd gepuncteerd, celformule van het exsudaat: lymphocytose; evenals in bovenstaand geval werden ook hier tuberkelbacillen in het pleura-vocht gevonden; de tuberculo-opsonische index van het bloedserum was = 0,95; die van het exsudaat = 0,92, beide indices vallen dus binnen de physiologische grenzen, een verschil van bacteriotropen druk is afwezig. Het opsoninonderzoek laat hier dus in den steek.

Eigenlijk is maar in één van de 6 gevallen de diagnose, die door het cytologisch onderzoek en de andere gegevens klinisch zeker was, door het opsonisch onderzoek duidelijk bevestigd.

Ik laat thans 4 gevallen volgen waar klinisch de diagnose van een niet tuberculeuze aandoening was gesteld.

Bij Mej. W. d. B. 45 j., die met klachten van zware anaemie was opgenomen, werd de diagnose gemaakt van anaemia perniciosa, wat bij de sectie werd bevestigd; er ontwikkelde zich

---

[1]) L. c. p. 106.

[2]) Sahli, Lehrbuch der klin. Unt. Method. 1909 p. 808.

tijdens haar verblijf in de kliniek een ophooping van vocht in de linker pleuraholte, dat 2 maal met tusschentijd van 10 dagen werd onderzocht.

Het was heldergeel, had als cytologische formule leucocytose, de ingespoten cavia's bleven in leven, en de aardappels bleven steriel. Ik vond de volgende indices:

Bloedserum I = 0,953. Exsudaat I = 0,96.

De tweede maal was het vocht troebel, bevatte roode bloedlichaampjes en polynucleaire witte bloedcellen en bijna geen lymphocyten.

Deze keer was de index van het bloedserum I = 1,1, van het exsudaat I = 0,81; beide indices zijn dus hier binnen de normale grens, overeenkomstig de diagnose.

Het tweede geval betreft een patiënt, bij wien de diagnose van cirrhosis hepatis en nephritis chronica was gemaakt.

Pat. van 't W., 46 j., sinds 2 jaar ziek, hartkloppingen en kortademigheid, nu en dan opzetting van buik en beenen. Hij zag nooit geel, had geen gezichtsstoornissen. Hoest niet, geeft niet op. Braakt veel, nooit bloed. Diarrhoe. Erkent misbruik van tabak en alcohol. Pat. heeft een gespannen pols, een vergroot hart, klappenden 2^{en} aortatoon. Geen afwijking aan de longen. Beneden proc. ensiformis en in de flanken uitgezette aderen; vocht in de buikholte. In de urine 2½ °/$_{oo}$ eiwit, roode en witte bloedlich., hyaliene en leucocytencylinders.

Bij punctie wordt 8 L. vocht verwijderd, met S.G. van 1008—1009. Eiwitgehalte 6 à 7 °/$_{oo}$.

De ingespoten cavia's bleven in leven; op den glycerine-aardappel zijn geen cultures opgekomen. Voor het bloedserum was I = 1, voor het ascitesvocht I = 0,6.

Hier zou dus volgens Wright tuberculose moeten gediagnosticeerd worden; nu is waar, dat bij levercirrhose wel tuberculose van het buikvlies voorkomt, maar in casu wees niets daarop.

Pat. Fr. ♂ 39 j., kwam binnen met klachten, die bij onderzoek als oorzaak bleken te hebben een pleuritis exsudativa dextra. Maar kort te voren was pat., die anders altijd gezond was, ongesteld geworden. zonder koude rilling, zonder herpes, maar met sterk gevoel van ziek zijn, hoesten, opgeven (soms bloederig).

Een jaar van te voren had pat. een acute longontsteking doorgemaakt en hij meent nu iets dergelijks gehad te hebben.

Pat. werd gepuncteerd; de ingespoten cavia's bleven gezond, de geënte aardappels steriel. De cellen in het vocht waren in hoofdzaak leucocyten; bovendien werden er talrijke gekapselde

diplocokken in gevonden. Na de punctie nam pat. zeer snel in beterschap toe; hij werd genezen ontslagen.

Een dag vóór de punctie bepaalde ik den tuberculo-opsonischen I van het bloedserum en vond dien 1,16, dus normaal. Bij de punctie was voor het bloedserum I = 1,1, voor het exsudaat I = 1,1. In dit geval bevestigt dus het opsonisch onderzoek de andere klinische bevindingen.

Eindelijk heb ik een geval onderzocht waarvan de geschiedenis luidt als volgt:

Pat. B. ♂ 19 j., klaagt sinds 2 maanden over benauwdheid en pijn in de borst, daarvóór was hij al jaren sukkelend, met toenemende vermagering, gevoel van moeheid en hartkloppingen; bij binnenkomen maakte pat. een zeer zieken indruk, koortste sterk en was sterk vermagerd, er werd een exsudaat in de linker pleura gevonden, verder pericarditis sicca gediagnosticeerd.

Tot 3 maal toe werd proefpunctie verricht, nimmer werden microörganismen in het exsudaat gevonden. De celformules waren als volgt: de eerste maal was er leucocytose, de tweede maal werden weer leucocyten en weinige lymphocyten gevonden, de derde maal waren de lymphocyten overwegend.

Ook met de methode van Spengler werden geen tub. bac. in het vocht gevonden. Er werden twee muizen ingespoten met het vocht, die na 29 resp. 48 uur stierven, in het bloed der muizen werden geen microörganismen gevonden, de cultures op glycerine agar zijn tot nu toe (2 maanden na dato) steriel, evenzoo zijn de met het vocht ingespoten cavia's steeds in leven. Vermeld dient tevens te worden, dat zich gedurende het verblijf van pat. in de kliniek een acute endocarditis ontwikkelde.

De tuberculo-opsonische index van het bloedserum was = 0,72, van het exsudaat = 0,69, hoewel van een verschil in bacteriostropen druk hier niets blijkt, zou men toch volgens Wright, wegens de lage indices hier tuberculose moeten gediagnosticeerd hebben.

De hierboven vermelde bepalingen van exsudaatvochten strekken zich over te weinig gevallen uit, om een beslist oordeel te rechtvaardigen. Een zoodanig onderzoek vertegenwoordigt een lang, moeilijk en tijdroovend werk, dat niet altijd (b.v. het geval 36., waar 2 bepalingen nog waardeloos bleken) een afdoend antwoord geeft; en juist voor exsudaten hebben wij reeds eenvoudige en voortreffelijke methoden ter beschikking. De celformule van

een exsudaat is betrekkelijk gemakkelijk vast te stellen; met eenige oefening kan ieder dat leeren. Hetzelfde geldt voor de intraperitoneale inspuiting van cavia's en voor het enten op glycerine-aardappel. Ze winnen het in diagnostische waarde zeker van de opsoninmethode, terwijl ze door hun eenvud een belangrijk voordeel hebben. Bovendien zijn de resultaten van het opsonisch onderzoek lang niet altijd reeds den eersten keer beslissend, want de factoren, die het opsoningehalte bepalen, kunnen elkaar zoo neutraliseeren, dat daardoor de uitkomst nietszeggend wordt. Aan den eenen kant heeft naar den haard toevoer van opsoninen plaats, aan den anderen kant is er op de infectieplaats een opsoninfixatie door de cellen en de bacteriën. Is de laatste kleiner dan de eerste, dan zal het verschil met het opsoningehalte van het bloed minimaal zijn; en wanneer het organisme op de infectie antwoordt met een flinke immuniteitsreactie, zal meestentijds zoowel in het bloed als in het exsudaat een zoo voldoende hoeveelheid opsoninen voorhanden zijn, dat het onderzoek geen uitkomst geeft.

In Duitschland heeft men de exsudaatonderzoekingen volgens de methode van Wright nagedaan, en men is daar tot zeer weinig waardeerende kritiek gekomen.

Köszler en Neumann [1]) vinden bij tuberculeuze exsudaten volstrekt niet steeds verminderden bacteriotropen druk; b.v. bij 3 gevallen van pleuritis exsudativa tuberculosa geven ze de volgende cijfers:

No. 1	serum	I = 0,88		exsudaat	I = 0,78
No. 2	„	I = 0,64		„	I = 0,68
No. 3	„	I = 0,88		„	I = 0,90

Het meest vermeldenswaard is in dit opzicht wel het onderzoek van Böhme [2]), die aan de methode alle diag-

[1]) Wien. klin. Woch. 1909 p. 1547.
[2]) Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. 96 1909.

nostische beteekenis ontzegt en de stelling van Wright over de vermindering van den bacteriotropen druk in den infectiehaard aanvalt. Böhme beweert, dat de opsonische kracht van exsudaten afhankelijk is van het gehalte aan leucocyten en aan eiwit. Hij onderzocht zeer veel tuberculeuze en niet-tuberculeuze exsudaten, en vond, dat vooral bij vloeistoffen van gering eiwitgehalte de opsonische index laag is en bij transsudaten lager dan bij exsudaten; hij gelooft de verklaring te moeten vinden in de complementvermindering, die samengaat met de daling van het eiwitgehalte. Normaal lumbaalvocht b.v. bezit van nature geen of bijna geen eiwit; de phagocytose is hierin dan ook nauwelijks sterker dan in een zoutsolutie; bij ontstekingsprocessen echter stijgt het eiwitgehalte en daarmede tevens de opsonische kracht. Deze bevindingen sluiten zich geheel aan bij wat Levaditi, zur Nedden en Knapp opmerkten voor het vocht van de voorste oogkamer. Voor nog belangrijker houdt Böhme het leucocytengehalte; daardoor kunnen etterige of sereuze exsudaten ondanks hoog eiwitgehalte toch een laag opsoningehalte hebben. Zoo vond hij voor de sera van etter met bekende aetiologie ten opzichte van den staphylococcus de volgende indices: bij een postpneumonisch empyeem (pneumococcus) I = 0,04; bij een tuberculeuzen pyopneumothorax 0,33; bij 2 door streptocokken veroorzaakte abcessen 0,4 en 0,06. Hiertegen is alleen in te brengen, dat ik bij Böhme niet kan vinden, dat hij zich overtuigd heeft, dat er geen gemengde infectie met staphylocokken was. Maar daarnaast leverde hij een meer direct bewijs, dat leucocyten in grooten getale tot complementbinding en hierdoor tot opsoninabsorpsie aanleiding kunnen geven. Hij bepaalde het opsoninengehalte van een serum vóór en na toevoeging van gewasschen ettercellen en vond, dat er

een niet-specifiek opsoninverlies plaats had. Ik meen, dat dit alles van belang is, vooral omdat Wright, die vroeger[1]) zoo zeer het opsonineonderzoek aanbeval voor de aetiologische diagnose van etter, later[2]) zelf aangeeft, dat het uiteenvallen van leucocyten in een etterhaard aanleiding kan geven tot opsoninvermindering. Bedenkt men daarbij nog, dat dezelfde invloeden, die het opsoningehalte van het bloed doen wisselen, ook in de exsudaten hun invloed kunnen doen gelden, dan aarzel ik niet te beweren, dat voor de aetiologische diagnose van deze vloeistoffen de methode niet alleen geen voordeel heeft boven de tot nu toe bekende hulpmiddelen, maar bij deze ten achter staat.

Ik deel in mijn waardeering van de klinische beteekenis van het opsoninonderzoek lang niet het enthousiasme, dat de Engelsche onderzoekers hebben. Ik heb uiteengezet, hoe wij wel, speciaal met den tuberculo-opsonischen index, tot een goed en dikwijls beslissend resultaat kunnen komen, maar de methode heeft groote moeilijkheden, al zijn deze niet onoverkomelijk. In Duitschland heeft men integendeel zeer streng de methode zelf veroordeeld als geheel willekeurig en onbetrouwbaar. Vooral Bächer en Laub[3]), Saathof[4]), Jürgens[5]), Böhme[6]), Beyer[7]) en Rolly[8]) hebben een zeer afbrekende kritiek gegeven; in het bijzonder bij het uitstrijken en tellen van het preparaat vinden zij de moeilijkheden, waarvan ik hier

---

1) L. c. p. 103.
2) Lancet 1907 17 Aug. Zie ook Eleösser in Münch. med. Woch. 1908 No. 31.
3) Wien. klin. Woch. 1908 No. 44.
4) Münch. med. Woch. 1908 No. 15.
5) Berl. klin. Woch. 1908 No. 13.
6) Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1909 Bd. 96.
7) Deutsch. med. Woch. 1909 No. 8.
8) Grenzgeb. Bd. 19 H. 2.

eenige vermeld. De volgevreten leucocyten hebben neiging om samen te kleven tot groote klompen, waardoor de celgrenzen niet meer te zien zijn en dus de telling geheel willekeurig wordt. Dit verschijnsel is niet te ontkennen, het is trouwens in vivo meermalen geconstateerd (Neufeld, Rimpau[1]), Löhlein[2])). Zelf heb ik het meermalen na een verblijf van 15 min. in de broedstoof waargenomen, maar afgezien van het feit, dat het bij mij niet in zoo sterke mate voorkwam als bij de Duitschers, kan men zeer dikwijls bij een goed geslaagde kleuring het aantal cellen in de niet te groote „placards leucocytaires" nog herkennen.

Dan zeggen ze, dat de kleuring van sommige bacteriën zoo ongelijkmatig is, dat bij de telling vele over het hoofd moeten gezien worden, en vooral die, welke onvoldoende gekleurd in de nabijheid van of op de celkern liggen. Deze opmerking heeft veel waars; sommige stammen (ik heb hierover al gesproken) zijn voor opsoninonderzoek eenvoudig niet te gebruiken, maar bij tuberkelbacillen is deze moeielijkheid niet aanwezig. Men kan bij deze door oefening praeparaten krijgen, die aan de hoogste eischen voldoen.

De onberekenbaarheid van het gedrag en het onderlinge verschil der leucocyten is een derde moeielijkheid. Indien wij echter zorgen, dat de emulsie zóó gelijkmatig is, dat er geen klompjes bacteriën in zijn, zal dit verschijnsel zeker tot een minimum beperkt worden en ik moet zeggen, dat ik naar gelang ik beter met de techniek vertrouwd raakte, ook kleinere verschillen in het per leucocyt opgenomen getal bacteriën gezien heb. Maar ten deele is deze opmerking juist, en is hier een moeielijkheid,

---

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 51 1905 p. 203.
2) Ann. de l'Inst. Past. 1905.

die de nauwkeurigheid van de methode niet ten goede komt. Wright geeft in zijn eerste voorschriften aan om alleen de polynucleaire cellen te tellen, en ik heb mij daaraan gehouden, ofschoon men zich gemakkelijk kan overtuigen (en bij tuberkelbacillen viel mij dit meermalen op), dat ook de overgangscellen en zelfs mononucleaire lymphocyten (de z. g. macrophagen van Metchnikoff) tuberkelbacillen opnemen [1]). De eosinophiele cellen, die men aan de grootte en het sterk lichtbrekende van de korrels kan herkennen, ook al zijn die niet gekleurd, eten altijd opvallend minder. Wat de polynucleaire neutrophiele cellen betreft, het is à priori niet onwaarschijnlijk, dat zich bij deze, afhankelijk b.v. van den leeftijd (men denke aan de indeeling van Arneth) een verschil in phagocytaire functie vertoont. Arneth heeft de polymorphkernige leucocyten in 5 groepen verdeeld, naar gelang het aantal lobben van de kern, en ziet hierin een uitdrukking van den leeftijd; de 3-lobbige zou de volwassene en meest levenskrachtige wezen. Nu zag Briscoe [2]) dat $^4/_5$ van alle bacteriën, die opgenomen zijn, voorkomen in de cellen van groep 1 tot 3.

De eosinophiele cellen zouden volgens Metchnikoff en Mesnil [3]) met reservemateriaal gevulde oude leucocyten zijn, die nog eenige phagocytaire kracht bezitten.

Bovendien moet men bedenken, dat het mengsel 15

---

1) Ook anderen is dit opgevallen. Zoo b.v. Buxton (in Journ. of med. Res. vol. XVI 1907 No. 98 p. 264): „The opsonic index of ordinary examination is calculated upon the phagocytic properties of the polynuclears, but the influence of the opsonins upon the bacilli appears to make them more acceptable to the macrophages also." Biottie (geciteerd naar Sauerbeck in Lubauch-ostertag 1906) verlangt, dat men voor berekening van den tuberculo-opsonischen index ook de macrophagen meetelle.

2) Lancet 1907 II p. 704.

3) Ann. de l'Inst. Past. 1895 p. 301.

minuten in de capillaire buis blijft staan, en dat in dien tijd een uitzakking mogelijk is, waardoor niet alle witte bloedlichaampjes met hetzelfde aantal bacteriën in aanraking komt. M. i. is deze omstandigheid van veel gewicht; alleen bij Saathoff vind ik dit feit ook genoemd. Maar als men zich nauwkeurig aan de voorschriften van Wright houdt, en vooral het phagocytaire mengsel na het verblijf in de broedstof door opzuigen en uitblazen weer goed mengt, dan zal men in alle plaatsen van het preparaat een gelijkmatige verdeeling van de leucocyten hebben en de fout zoo klein mogelijk maken.

Men kan dit trouwens bij elke telling goed controleeren door de 100 leucocyten in groepen van 25 te tellen; verschillen deze 25-tallen onderling te veel, dan doet men goed meer dan 100 te tellen of een nieuw preparaat te maken. Ik heb dit zeer dikwijls nagegaan en ik ben tot de overtuiging gekomen, dat, moge nu en dan een preparaat een regellooze willekeur vertoonen, gewoonlijk de resultaten vrij regelmatig zijn. Dit is ook het oordeel van anderen, die in den laatsten tijd in Duitschland zijn opgekomen voor de methode en onder wie Strübell, Fornet en Much behooren.

Deze geven gedeeltelijk de moeielijkheden van de tegenstanders toe, maar ze wijzen er toch ook met nadruk op, dat deze door zich niet geheel aan de voorschriften van Wright te houden, niet zulke gunstige resultaten krijgen. En wanneer men hun beschrijving leest, bemerkt men ook, dat ze in vele opzichten de techniek gewijzigd hebben, en vooral bij het maken en doseeren van de suspensies (zie b.v. Rolly), zeer willekeurig te werk gaan. Wie de mededeelingen van Fornet en Strübell leest, krijgt wel den indruk, dat door goede oefening de techniek tot een kolossale hoogte is op te voeren en de resultaten zeer betrouwbaar worden. In

ieder geval begint men in Duitschland de fouten en de moeilijkheden van de methode minder groot te schatten en de kritiek van Saathof o.a. begint voor een veel grootere waardeering plaats te maken. Much[1]) acht haar zelfs zoo betrouwbaar en zoo fijn, dat hij haar voor de herkenning der febris typhoidea verkiest boven de agglutinatie; hij zag, dat in gevallen, waarin het bloedserum nog in 't minst geen agglutinatie gaf, bij herhaald onderzoek de index al duidelijke afwijkingen vertoonde. Met behulp van de opsoninmethode maakte hij de diagnose tusschen buiktyphus en paratyphus, die in alle gevallen door bacteriologisch onderzoek bevestigd werd. Bij infecties door b. coli commune en bij meningitis cerebro-spinalis kon hij langs dezen weg tot de meest zekere diagnose komen. Much raadt dan ook aan, om omgekeerd voor de determineering van de verschillende microben van de coli- en typhusgroep in plaats van de agglutinatie het opsonisch onderzoek te gebruiken. Maar zelfs de voorstanders van de methode van Wright in Duitschland toonen een zeer groote reserve, waar het de waarde geldt, die zij voor de prognose en de therapie zou hebben. Volgens Wright kunnen wij uit de opsoninenkromme het ziekteverloop lezen; wanneer in 't begin de index laag is en dan rijst zou men constant verbetering zien in het klinische verloop; omgekeerd zou een achteruitgang van het proces zich openbaren in verlaging van den index. De indexcurve is dus voor Wright eenvoudig de indicator van den immuniteitstoestand. Bij lezing van de mededeelingen van Wright zal men zeker dikwijls getroffen worden door het samengaan van opsoninvermeerdering en verbetering van het ziekteproces. Maar wie onbevooroordeeld ook van de resultaten van anderen kennis

---

[1]) Münch. med. Woch. 1908 p. 433 en 496.

neemt, kan er zich niet van losmaken, dat hier in hoofdzaak paradegevallen vermeld zijn. Ik zelf zou in geen der toch lang vervolgde gevallen van progressieve longtuberculose uit de indexcurve ook maar de minste prognostische gevolgtrekking hebben kunnen maken. Bij klinisch genezen pleuritis heb ik den index in 't ééne geval laag, in 't andere hoog gezien. Het is mij dan ook onbegrijpelijk, hoe Köszler en Neumann[1]) een „gesetzmäszigen Zusammenhang" hebben meenen te vinden tusschen den aard van de tuberculose en de hoogte van den index, die, volgens hen verlaagd is bij longprocessen zonder koorts. Dit laatste neem ik als juist aan, en komt overeen met den algemeenen regel, dat bij een aandoening, van waaruit de toxinresorpsie gering is, het opsonin-gehalte laag is. Dat echter bij processen met koorts, waarbij veelal een verwoestingsproces in de longen plaats heeft, de index hoog is (zij vonden als gemiddelde van 11 gevallen I = 1,16) kan ik beslist tegenspreken. Trouwens zelf zeggen zij met hunne bevinding in tegenspraak te zijn met Romanelli, die bij progressieve tuberculose altijd verlaging vindt. De op- en neergaande curve vonden zij speciaal in die gevallen, waar weinig physische afwijkingen waren, maar door de algemeene verschijnselen (temperatuur, vermagering, etc.) tot de zwaardere moeten gerekend worden. Ja, zelfs zouden de perioden van koorts zich altijd aankondigen door verlaging van den index, die met daling der koorts weer stijgen zou. Ik schrijf hun uitkomsten aan louter toeval toe; zij deden in de afzonderlijke gevallen zoo weinig bepalingen, dat nergens van een eenigszins langer regelmatig gevolgde curve sprake is.

Maar zelfs deze schrijvers vinden geen verband tusschen

---

[1]) Wien. Klin. Woch. 1909 p. 1547.

het opsoningehalte en de prognose. Ik heb nu maar een van de vele publicaties genomen, men zal echter nergens in de al zoo uitgebreide litteratuur vinden, dat practische regels voor de prognose uit den opsonischen index zijn gevonden. Terwijl Ogilvie[1]), die gevallen van plaatselijke tuberculose behandelde, de beterschap zag samengaan met een verhooging van den index, terwijl Strübell bij de staphylocokkeninfectie meestal de hoogte van den index tegengesteld zag aan de hoogte van de temperatuur, vond Böhme nooit verband tusschen prognose en index, en ook Much, overigens een enthousiast voorstander, en Schmidt[2]) ontkennen iederen samenhang tusschen de opsonincurve en het ziektebeeld. Strübell, die de eerste is, die op het vasteland (te Dresden) een laboratorium uitsluitend voor dit onderzoek heeft opgericht, noemt de gevallen van Wright paradegevallen en zegt, dat uit de opsonincurve geen prognostische gegevens zijn te krijgen. Böhme[3]) miste bij gevallen van chronische staphylocokkenaandoening eveneens verband tusschen het klinische verloop en de opsonincurve; verder zag hij[4]) een typhusrecidief optreden, terwijl de index ongewoon hoog was; bij pyelocystitides, door b. coli veroorzaakt was de index hoog tijdens de koorts, en daalde vaak bij duidelijke klinische verbetering. Hij merkt hierbij zeer juist op, dat hetzelfde voor de bacteriolysinen en agglutininen dikwijls is aangetoond, en dat, waar wij al niet meer gewoon zijn in het gehalte aan deze antistoffen een doorslaggevende maatstaf voor den graad der immuniteit te zien, er ook niet de minste grond bestaat om de opsoninen als indicator hiervan te beschouwen. Grace

---

1) Geref. in Münch. med. Woch. 1908 p. 1091.
2) Grenzgeb. Bd. 21 1909 H. 1.
3) Deutsch Arch. f. klin. Med. 1909 Bd. 96.
4) Munch. med. Woch. 1906 No. 28.

Calvert[1]) zag bij gevallen van snel achteruitgaande tuberculose zeer schommelende curven, zonder echter ooit verband te kunnen vinden met de temperatuur. Hij stemt hierin geheel overeen met Lawson, Stewart en Ritchie. Bij gevallen, die baat vonden bij de sanatoriumbehandeling was het succes van de kuur nooit uitgedrukt in de opsoninkromme. Bij acute infecties daarentegen ziet men in 't algemeen een veel duidelijker parallelisme tusschen het verloop van het proces en het gehalte aan opsoninen, o. a. bij malleus, pneumonie en cerebrospinaal meningitis (Stradotti en Giglioli[2])). Schiffman en Kohn[3]) konden dit evenwel voor acute sepsis post partum niet bevestigen. En zoo zou ik kunnen voortgaan met tallooze schrijvers aan te halen. Eén ding is zeker, dat de bevindingen zoo tegenstrijdig zijn, dat het standpunt van Wright om uit de opsonincurve regels voor de prognose af te leiden, vooralsnog onhoudbaar is. Ik wil dan ook aan deze quaestie het laatste gedeelte van mijn proefschrift wijden en uiteenzetten, dat de methode van Wright wel voor de diagnose waarde heeft, maar dat zij ons in geenen deele in staat stelt tot een oordeel over den immuniteitsgraad. In het eerste gedeelte heb ik uiteengezet, welke beteekenis naast de lichaamsvochten de cellen en de bacteriën voor de immuniteit hebben, en hoe eerst door de wisselwerking van die drie factoren een evenwichtstoestand ontstaat, dien wij immuniteitsgraad kunnen noemen. Welnu, de methode van Wright stelt ons alleen in staat van één van de drie de grootte te meten; de leucocyten en de bacteriën worden als onveranderlijke factoren beschouwd. Nikolsky[4])

---

[1]) Lancet 2 Febr. 1907.
[2]) Gerefereerd in Weichardt, Jahresber. Imm. forsch. Bd. V 1909.
[3]) Wien. klin. Woch. 1909 p. 82.
[4]) Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 53 p. 544.

heeft er duidelijk op gewezen, dat de Engelsche school[1]) nog steeds vasthoudt aan de stelling, dat witte bloedlichaampjes van verschillende herkomst een even groote werkzaamheid hebben, en hiermede begaat ze een groote fout. En Kjer-Petersen[2]) brengt een niet minder gewichtig bezwaar te berde: „The opsonic doctrine does not in any way pay attention to the virulence of the bacteria." In deze twee opmerkingen ligt mijns inziens de kern van de kritiek, die wij tegen de leer van Wright kunnen uitoefenen, en juist omdat deze de fout heeft op zeer gebrekkige wijze in het immuniteitsvraagstuk door te dringen, mogen wij van haar niet de groote verwachtingen koesteren, die Wright c.s. van haar hebben. Vroeger heb ik reeds vermeld dat de leucocyten de plaats beginnen te heroveren, die zij door den invloed der Duitsche school verloren schenen te hebben. En al heeft Wright ook aangetoond, dat de phagocytose-bevorderende stoffen op de bacteriën en niet op de leucocyten werken, en dat dus Metchnikoff's voorstelling van „stimulinen" niet juist is, aan den anderen kant neemt men tegenwoordig weer algemeen aan, dat zoowel kunstmatig als bij ziektetoestanden de eigenschappen der witte bloedcellen als zoodanig beïnvloed kunnen worden en dat ze onder die invloeden een zeer verschillend phagocytair vermogen kunnen vertoonen, zooals a priori ook wel moet worden verwacht.

Busse[3]) bemerkte, dat met leucocyten van verschillende herkomst de resultaten onderlinge afwijkingen vertoonden van 10 % tot 25 %. Men heeft dikwijls reeds gezien, dat het opsoninenonderzoek bij gravidae en puerperae van geen waarde is, daar bij deze een niet-specifieke index-

1) Zie Fleming in Practitioner, May 1908.
2) Lancet 1908 p. 919.
3) Deutsche med. Woch. 1909 p. 569.

verandering gevonden wordt, en de opsoninenkromme een veel grootere labiliteit vertoont. Güggisberg[1]) bevestigde dit bij een groot aantal gravidae voor staphylo- en streptocokken en zag eveneens bij puerperae verhoogingen en verlagingen van den index, die aan geen wetten gebonden waren en geheel buiten de physiologische grenzen vielen (Koessler en Neuman[2]) Heynemann en Barth[3]) en Martin[4])) en verklaren daaruit den ongunstigen invloed van zwangerschap en kraambed op het tuberculeuze proces.

Wansey Bayly[5]) bepaalde bij 44 kraamvrouwen den tuberculo-opsonischen index; gebruikte hij zijn eigen leucocyten, dan was deze in 39 gevallen 0,8 — 1,2, in 3 gevallen hooger dan 1,2 en in 2 gevallen lager dan 0,8; gebruikte hij nu de witte bloedlichaampjes van de patiënten, dan waren de uitkomsten geheel anders en slechts 19 maal viel de index binnen de physiologische grenzen en 25 maal was hij lager dan 0,8. Bepaalde hij de phagocytaire kracht nog op een andere wijze, door namelijk te nemen het bloed van de patiënte en de cellen van de patiënte en als contrôle zijn eigen bloedserum en zijn eigen leucocyten, dan kreeg hij slechts in 4 gevallen normale waarde, in 36 gevallen was de index lager dan 0,8 en in 4 gevallen hooger dan 1,2. Men kent trouwens reeds verschillende toestanden, waarbij de functie der leucocyten veranderd is; zoo heeft men gezien, dat bij thyreopriven hare phagocytaire werkzaamheid is verminderd (Rosenthal[6]), Marbé[7])), terwijl

[1]) Wien. klin. Woch. 1909 p. 1115.
[2]) Münch. med. Woch. 1908 p. 813.
[3]) Münch. med. Woch. 1909 p. 176.
[4]) Deutsche med. Woch. 1909 p. 1172.
[5]) Lancet 1908 I p. 1073.
[6]) Deutsche Klin. 1909 Bd. XII Erg. I p. 67.
[7]) C. R. Soc. Biol. T. 66 en 67.

deze omgekeerd bij toediening van theyreoiedpraeparaten toeneemt. Bij een patiënte met morbus Basedowi zag Marbé zoowel de opsonische kracht van het serum als de vreetlust der witte bloedcellen verminderen. Eveneens neemt bij ziekte van de bloedbereidende organen de phagocytaire kracht der leucocyten af, zooals Parvu[1]) en Ledingham[2]) bij pernicieuze anaemie aantoonden. De laatste kreeg bij patiënten met myelogene leukaemie normale indices, wanneer hij zijn eigen leucocyten gebruikte, verlaagde indices echter met leucocyten van de patiënten. Dezelfde bevindingen hadden Bushnell[3]) en Troup[4]).

Copelli[5]) vond, dat leucocyten van lijders aan tuberculose een beduidend verminderd phagocytair vermogen hadden. Niet alleen onder physiologische, maar vooral onder pathologische omstandigheden kan dus de functioneele waarde van de leucocyten groote verschillen opleveren; dit is een gewichtig feit, waarmede in de leer der opsoninen geen rekening gehouden wordt. Stattock en Dudgeon[6]), die in proeven over phagocytose van melaninkorrels vermelden, dat ook melanin door middel van opsoninen wordt opgenomen, en dat het gelukt een immuunopsonin te verkrijgen tegen melanine, komen, de rol van de leucocyten bestudeerdende bij het immuniseeringsproces tot de conclusie, dat, wil men een goede voorstelling krijgen over den weerstand van een individu, men ook de phagocytaire waarde van de leucocyten moet kennen. „The action of the patient's haemophagocytic resistence is to be arrived at." Met de

1) C. R. Soc. Biol. T. 66 p. 1080.
2) Geciteerd door Nikolksky, Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 53 p. 545.
3) Lancet 1907 II p. 704.
4) Lancet 1908 I p. 185.
5) Weichardt, 1909 Bd. V Ref. p. 112.
6) Proc. Roy. Soc. March 24 1908.

methode van Wright zijn wij alleen in staat „to gauge the curative capacity of the patient's serum only." Daarop hebben dan Shattock en Dudgeon een nieuwe methode van onderzoek gebaseerd, die hierin bestaat, dat met elkaar vergeleken worden de werking van de phagocyten van een immuun dier in immuunserum met die van cellen van een normaal dier in normaal serum. De cellen van het immune dier kunnen grootere of kleinere phagocytaire kracht hebben, het immuunserum kan ook naar beide richtingen zijn eigenschappen veranderen; men moet dus met beiden rekening houden. En zij krijgen volgens hunne methode grootere uitslagen dan volgens de techniek van Wright. In 2 gevallen vonden ze resp. volgens de methode van Wright I = 1, volgens hunne methode I = 1,2; volgens Wright I = 1, volgens de hunne I = 4,7. Ook bij anderen vindt men pogingen om de methode van Wright te verbeteren (Dodds[1]), Bushnell en Troup[2]), Veitch[3])). Het principe van al deze wijzigingen bestaat hierin, dat men het te onderzoeken bloed in citras natricus opvangt, om stolling te voorkomen, en het in zijn geheel samenbrengt met emulsies van bacteriën; men laat dus de eigen leucocyten in het vloeibaar gehouden bloed phagocyteeren. Als contrôle neemt men dan dezelfde hoeveelheid op dezelfde wijze behandeld normaal bloed. Dodds maakt zijn emulsies van de bacteriën in een oplossing van citras natricus in physiologische zoutsolutie en doet gelijke deelen van deze emulsie en van bloed uit de prikwond bij elkaar. Alleen zou men volgens Dodds ook de verhouding van het aantal leuco-

---

[1]) Brit. med. Journ. 1907 12 Oct.
[2]) Lancet 1908 II p. 185.
[3]) Wiener klin. Woch. 1908 p. 1720.

cyten in acht moeten nemen. Vindt men b. v. in eèn preparaat als phagocytair getal 0,6, in 't andere van 1, en is in 't eerste geval het aantal leucocyten 11000 per m.M³., in 't tweede 16000, dan is de index niet = 0,6 maar $\frac{0{,}6 \times 16000}{1 \times 11000} = 0{,}87$. Bushnell en Troup vangen het bloed op in 5 volumina citraatoplossing en voegen daaraan 1 volumen dichte bacteriënemulsie toe. Zoo vonden zij, dat bij sommige ziekten (vooral bij leukaemie) de phagocytaire kracht van de witte bloedcellen tot op $^1/_3$ van de normale kan gereduceerd zijn. Glynn, Warrington Yorke en Cox[1]) zagen op deze wijze, dat b. v. tegenover staphylocokken een normaal serum een vermeerderde hoeveelheid opsonine kan hebben vergeleken met een ander normaal serum, maar dat door een verschil in werkzaamheid van de leucocyten de geheele phagocytaire index van beide sera precies gelijk kan zijn. Mijns inziens moge het principe van de methode geheel juist zijn, tegen de techniek is nogal wat in te brengen. De leucocyten verkeeren in een zeer vreemd milieu, en zonder twijfel zal een aanraking gedurende 15 minuten met de groote hoeveelheden citras natricus voor hare werkzaamheid schadelijk zijn. In de tweede plaats zal men wel nooit kunnen beletten dat er in geringe mate stolling optreedt, waarbij leucocyten te gronde gaan en complement vrij komt; hierdoor wordt de opsonische kracht van de vloeistof zeer beïnvloed en van een zuivere vergelijking van 2 sera kan geen sprake meer zijn. Stadowsky[2]) zegt dan ook, dat naast de vele voordeelen, die de methode van Veitch heeft, zij het nadeel bezit, dat er bijna altijd ondanks toevoeging van citras natri-

---

1) Lancet 1908 II p. 901.
2) Wien. klin. Woch. 1908 p. 1720.

cusoplossing bloedstolling optreedt, en dat daardoor te weinig leucocyten in het gezichtsveld komen. Men herinnere zich hetgeen ik hieromtrent zeide bij de bespreking van de isoagglutinatie.

Veel juister is dan ook de methode van Nikolsky[1]), die bij het maken van de praeparaten geheel te werk gaat als Wright, maar behalve de sera ook de gewasschen leucocyten van beide te vergelijken personen gebruikt. De methode wordt daardoor zeldzaam omslachtig en zij zal zich niet inburgeren, maar ze bewijst duidelijk, dat de rol van de leucocyten een niet te verwaarloozen factor is. Nikolsky werkte met bac. diphtheriae en vergeleek in 2 series de werking der leucocyten van een normaal en een geïmmuniseerd dier (cavia), terwijl hij telkens hetzelfde serum gebruikte. Hierbij vond hij groote verschillen; hij zag dat in 't begin van de infectie leucocyten van het immune dier sterker phagocyteerden dan normale; in de latere stadia meestal omgekeerd. Hiermede rekening houdend, zegt hij, dat, wil men een goede vergelijking krijgen van de phagocytaire kracht van het bloed van een lijder aan een infectieziekte en een gezond persoon, men een waarde moet vinden, waarin zoowel de index van het phagocytair vermogen van de leucocyten (deze waarde noemt Nikolsky phagocytairen index) als die van het serum (dit noemt hij opsonischen index) is uitgedrukt. Eerstens kan men beide waarden afzonderlijk berekenen en in een getal uitdrukken. Men neemt dus de leucocyten zoowel van den te onderzoeken en normalen persoon (resp. A en B) en beider sera.

Wij kunnen nu vergelijken: *a*) den phagocytose bevorderenden invloed van de sera, m. a. w. den index opsonicus van Wright die aldus in een formule is te

---

[1]) Centralbl. f. Bact. Abt. I Orig. Bd. 53 p. 544.

brengen: opsonische index $= \frac{\text{serum A + leuc. A}}{\text{serum B + leuc. A}}$ of $= \frac{\text{serum A + leuc. B}}{\text{serum B + leuc. B}}$, de herkomst van de leucocyten is hier, evenals bij Wright, verwaarloosd; *b*) de phagocytaire kracht van de witte bloedlichaampjes, die aldus kan uitgedrukt worden:

$$\frac{\text{serum A + leuc. A}}{\text{serum A + leuc. B}} \text{ of } \frac{\text{serum B + leuc. A}}{\text{serum B + leuc. B}},$$

waarbij dus de herkomst van het serum buiten rekening wordt gelaten. Deze waarde noemt Nikolsky phagocytairen index, (niet te verwarren met den phagocytairen index volgens Wright, die niets anders is dan het gemiddeld aantal bacteriën per leucocyt; deze laatste waarde heet bij Nikolsky ter onderscheiding phagocytairen coefficient). Een formule waarin beide factoren zijn opgenomen is dan de opsono-phagocytaire index (of haemophagocytaire index) $= \frac{\text{serum A + leuc. A}}{\text{serum B + leuc. B}} = \frac{\text{aantal}}{\text{aantal}}$

$$= \frac{\text{bacteriën per leucocyt opgenomen wanneer gebruikt}}{\text{bacteriën per leucocyt opgenomen wanneer gebruikt}}$$

$$= \frac{\text{worden serum A + leuc. A } (= \text{phagocyt. coeff. } \frac{A}{A}).}{\text{worden serum B + leuc. B } (= \text{phagocyt. coeff. } \frac{B}{B}).}$$

Wanneer hij deze waarde vergelijkt met die van den opsonischen index van Wright, vindt hij groote verschillen, wat blijkt uit de volgende tabel:

Opsonische index (Wright). . .	1,4	1,3	2,6	1,2	2,1
Opsono-phagocytaire index. . .	1	1,1	1,7	1,1	1,3

Deze methode is veel te omslachtig om aanspraak op klinische bruikbaarheid te mogen maken, maar de uitkomsten doen wel degelijk zien, hoe met die van Wright

geenszins nauwkeurig de phagocytaire weerstand van een individu wordt bepaald.

Ik vermeldde reeds, dat thyreoïdpraeparaten een stimuleerende werking op leucocyten hebben; Neisser en Guerrini[1]) vonden dat ook pepton, chinine, nucleïne en joodkali, die in groote dosis vergiften zijn voor de witte bloedlichaampjes, in kleine hoeveelheden als z.g. leucostimulantia werken.

Pepton b. v. gaf in een verdunning van 1 : 16000 een verhooging van het phagocytaire cijfer van 7,1 op 16,1 d. w. z. dat leucocyten in dit milieu meer dan 2 maal zoo krachtig phagocyteerden. Men ziet hieruit, hoe gevoelig deze cellen zijn, en hoe wij voorzichtig moeten wezen, om uit proeven in een reageerbuis conclusies te trekken over de werkelijke verrichtingen in het levend lichaam. Zoowel bij de oorspronkelijke methode van Wright als bij de latere wijzigingen werken wij met te fijne reagentia, die te licht beïnvloed worden, om daarop te sterk te vertrouwen. Maar tevens bevestigt dit nog mijn opmerking, dat met de groote gevoeligheid van de leucocyten de waarde van alle voorgestelde wijzigingen van het procédé van Wright, waarin de citras natricus in het phagocytaire milieu blijft, niet te hoog moet geacht worden.

Er zijn nog andere methoden van opsoninbepaling, die ik alleen volledigheidshalve vermeld, o. a. die van Neisser en Guerrini, welke veel gecompliceerder is dan die van Wright. Ze beginnen in de emulsie het aantal bacteriën en leukocyten te tellen; na afloop der proef worden de leucocyten afgefiltreerd, nu worden de bacterien nogmaals in het filtraat geteld en uit die drie factoren wordt de phagocytaire index berekend. Zij

---

[1]) Geref. in Deutches Arch. f. klin. Med. Bd. 95 1909 p. 208.

geven zelf toe, dat aan het ziekbed deze methode wel zal achterstaan bij die van Wright, maar meenen, dat ze voor theoretisch onderzoek voortreffelijke diensten bewijst. Misschien heeft menigeen zich ook afgevraagd, waarom niet van een serum de opsonische titer bepaald wordt evenals dat voor het bacteriolytisch of agglutineerend vermogen geschiedt. Volgens Böhme[1]) daalt bij verdunning van een serum het phagocytaire vermogen niet evenredig met de verdunning, maar veel minder snel, zoodat men den verdunningsgraad als abscisse en den index als ordinaat nemend, een paraboolachtige lijn krijgt; schommelingen van het opsoningehalte in niet verdunde sera worden door de indexbepaling maar in verkleinde maatstaf weergegeven.

Voor theoretischen arbeid wordt dan ook vrij algemeen in Duitschland nagegaan, bij welke verdunning een te onderzoeken serum vergeleken met een normaalserum nog opsonische werkzaamheid bezit. Simon en Lamar[2]) passen deze methode ook voor klinisch onderzoek toe; zij nemen als index van het opsoningehalte dien graad van verdunning, waarbij de phagocytose practisch = 0 is geworden of waarbij het getal van de phagocyten, die niet gevreten hebben, hooger dan 90 % is; dit noemen ze dan de „opsonic coefficient of extinction". Ze zouden hiermede zeer betrouwbare resultaten gekregen hebben. Het blijft echter een vraag of verdunningsmethoden wel geheel verdedigbaar zijn; in de eerste plaats kan de werkzaamheid van leucocyten door verschil in concentratie der vloeistoffen beïnvloed worden, en in de tweede plaats kan de werking en de structuur van de opsoninen door verandering van den

---

[1]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bs. 96 1909.
[2]) John Hopkin's Hospital Bulletin Vol. XIII No 178 Jan. 1906.

physischen toestand van het milieu wijzigingen ondergaan; ik herinner maar aan het door Wright en Hannema aangetoonde feit, dat immuunopsoninen resp. fixateurs in verdunden toestand hun thermostabiliteit verliezen.

In het eerste gedeelte heb ik breedvoerig uiteengezet, welk een belangrijke factor de eigenschappen van de bacteriën zijn voor de verklaring van de immuniteit. Wright houdt hiermede geen rekening, evenmin als met de beteekenis der leucocyten; hij heeft gemeend, dat met de aanwezigheid van de opsoninen de immuniteit is te verklaren, en hij gebruikt haar geheel als richtsnoer voor zijn therapeutisch ingrijpen. Maar hierin dwaalt hij mijns inziens. Wij beschouwen al lang het gehalte aan agglutininen en bacteriolysinen niet meer als een aanwijzing van den graad der immuniteit, omdat men heeft leeren inzien, hoe verschillend de verhoudingen in vitro en in vivo zijn; bloed van typhuslijders, dat in het laboratorium langeren tijd gekweekte stammen sterk agglutineert, mist die eigenschap dikwijls tegenover versch uit het bloed van een typhuspatiënt gekweekte bacillen, die dan bij verdere kweeking dien weerstand tegen de agglutinatie verliezen. Hetzelfde heeft men bij typhusstammen gezien ten opzichte van de bacteriocidie (Hafkin, Kionka, Courmont, etc.[1]); men heeft zich zelfs overtuigd, dat typhusbacillen in bloed van typhuslijders, dat door oxalas natricus vloeibaar gehouden werd zich ongestoord vermeerderden, terwijl het serum van hetzelfde bloed laboratoriumstammen doodde. Welnu ook van de opsoninen is iets dergelijks bekend.

Met vele pneumocokkenstammen, die op serumagar waren gekweekt, en door overenten op Bordet'schen

---

[1]) Geciteerd naar Eisenberg.

agar goed hun virulentie behielden, gelukte het mij niet den opsonischen index te bepalen, omdat zij noch onder invloed van patiëntenserum, noch met normaal serum door de leucocyten werden opgenomen; zelfs met de dichtste emulsies kreeg ik na 1/2 uur à 3/4 uur dikwijls niet het minste resultaat. In mijn preparaten merkte ik op, dat de opsoninvaste kokken meestal hun kapsel of een rudiment ervan behouden hadden, wat vooral bij enkele na langer contact gephagocyteerde microben duidelijk te zien was. Bij voortgezette kweeking op andere bodems verloren ze de eigenschap opsoninvast te zijn en werden gemakkelijk opgenomen. Dit door mij opgemerkte feit vermeldt ook Rosenow[1]), wien het gelukte met extracten van virulente stammen avirulente pneumocokken tegen de phagocytose te beschermen. De beschuttende kracht van het extract, die hij viruline noemde, was des te grooter, naarmate de kokken meer virulent waren. Huber[2]) zag, dat een passage door de witte muis een avirulente pneumocokkenstam onvatbaar maakte voor de phagocytose; Zade[3]) vond geheel hetzelfde. Tschistovitch en Yourevitch[4]) meenen de verklaring van den weerstand van sommige microben gevonden te hebben in de vorming van bepaalde stoffen, die zij antiphaginen noemen. Bij den microbe van de kippen-cholera gelukte het hun dezelfde stoffen aan te toonen[5]). Diplocokken, die door herhaalde dierpassage en kweeking op gestold serum goed hun virulentie behielden (kapselvorming) werden door phagocyten niet opgenomen, na wassching, waarbij de kapsel behouden

---

1) Geciteerd naar v. Gruber.
2) Berl. klin. Woch. 1903 No. 16.
3) Zeitschr. f. Imm. 1909 Bd. II H. 1 p. 81.
4) Ann. de l'Inst. Past. 1908 p. 611.
5) Ann. de l'Inst. Past. 1909 p. 834.

bleef, echter wel; toevoeging van het vocht van de oorspronkelijke emulsie maakte weer, dat zij niet werden opgevreten. Er moeten dus in de cultuur stoffen gevormd zijn, die de phagocytose verhinderen; avirulente pneumocokken produceeren deze stoffen niet. Vermenging van staphylocokken met de door de pneumocokken gevormde antiphaginen belemmerde de phagocytose niet; het zijn dus specifieke lichamen. Ik heb bij een zeer virulenten stam, die ik zelf gekweekt had, de proef van Tschistovitch en Yourevitch nagedaan, maar kon evenmin als Zade hunne opgave bevestigen. Wat mij opviel bij de opsoninvaste kokken was de kapselvorming, die ze behielden bij kweeking op Bordet'schen agar. De opgaven van de Russische onderzoekers zijn te nauwkeurig om aan het bestaan van antiphaginen te twijfelen — men herinnere zich ook wat Rosenow vond — maar naast de door sommige microben afgescheiden beschermende stoffen (antiphaginen, agressinen) zullen zeker ook morphologische veranderingen, als de kapselvorming, uiting zijn van immuniteit en virulentie van bacteriën. Ik heb deze feiten hier nogmaals medegedeeld, om te doen zien, dat de leer van Wright met de eigenschappen van de bacteriën in 't geheel geen rekening houdt, en dit feit, naast het ontkennen van de waarde van de leucocyten in het proces der phagocytose geven mij aanleiding twee belangrijke punten van kritiek tegen haar te formuleeren en aan de methode behalve de diagnostische verder alle waarde te ontzeggen. Ik vraag mij bijvoorbeeld af in hoeverre een opsonincurve, die het resultaat is van dikwijls herhaalde bepalingen, waarbij telkens de bij den patiënt gekweekte stam heeft dienstgedaan, waarde heeft. Het opsoningehalte van den patient kan al of niet geschommeld hebben in dat tijdsverloop, maar zeker is, dat de bacteriënstam

door het herhaaldelijk overenten veel van zijn eigenschappen, en zeker van zijn virulentie heeft verloren, zoodat onder anderen de spontaanphagocytose in de latere bepalingen zonder twijfel een groote rol is gaan spelen; misschien is ook de opsoninfixatie op de veranderde bacteriën geheel gewijzigd. Daarentegen heeft de stam, die den patiënt heeft geïnfecteerd, en nog in zijn organisme aanwezig is, een geheel ander lot gehad in dien tusschentijd.

In het eerste gedeelte heb ik geschetst hoe uit de overlevende bacteriën zich nieuwe generaties vormen, wier eigenschappen worden bepaald door de wisselwerking van het zich verdedigende organisme en de zich verdedigende microben. De virulentie van deze openbaart zich dus eigenlijk eerst goed in den loop der infectie, en hangt af van tal van omstandigheden, die het lot en het karakter van het ziekteproces beheerschen.

Bezien van dit standpunt nu zijn de leer en het onderzoek der opsoninen als immuniteitsverklaring en meting volkomen onbevredigend; een juiste aanwijzing van den immuniteitstoestand zal slechts die methode geven, die rekening houdt aan den éénen kant met de virulentie van de bacteriën en aan den anderen kant met de kracht van de verweermiddelen, de phagocyten en de lichaamsvochten. Geldt het eenvoudig een diagnostische bepaling, dan is het alleen de vraag, in hoeverre een serum zich anders gedraagt dan een normaal serum. Het veiligst voelt men zich bij de bepaling van den tuberculo-opsonischen index, waar men steeds hetzelfde bacteriënmateriaal gebruikt, dat niet verandert, maar constant in zijn eigenschappen is, en dus een uitstekend

---

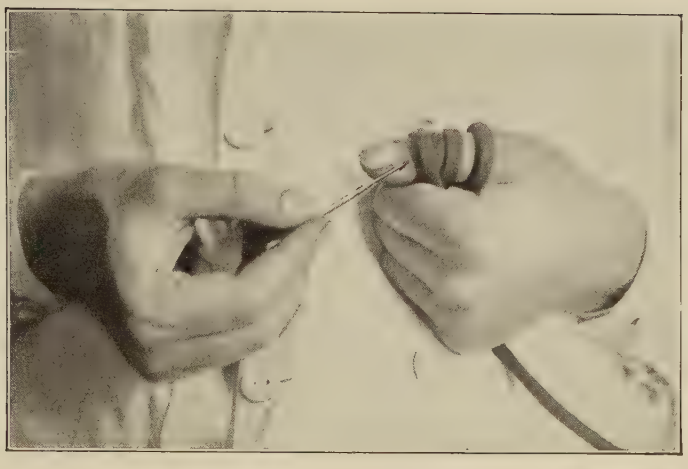
1) Zie Sauerbeck Die Krise in der Immunitätsforschung. p. 45. (Klinkhardt Leipzig 1909).

reagens is, terwijl ook uit zuiver technisch oogpunt de moeielijkheden hier veel minder groot zijn.

Hiermede ben ik aan het einde van mijn taak gekomen. Resumeerende beweer ik dan, dat Wright, door aan de opsoninen een afzonderlijke plaats toe te kennen, en haar zelfs de voornaamste plaats in te ruimen bij de verklaring van het immuniteitsprobleem, zeker te ver is gegaan. Als gevolg daarvan draagt ook zijn klinische methode dezelfde eenzijdigheid en onvolmaaktheid, die ons niet in staat stelt behalve voor diagnostische doeleinden van haar met vrucht gebruik te maken. Dat de leer van Wright in vele opzichten een teleurstelling is geweest, mag niet ontkend worden en zeer waar is, wat Neufeld zeide: „Von der übertriebenen Erwartung, die man eine Zeitlang für die klinische Praxis an die Opsoninbestimmung geknüpft hat, ist man wohl allgemein zurückgekommen".

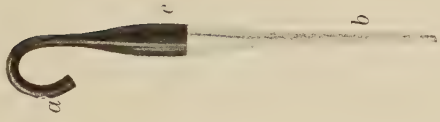
Ik hoop aangetoond te hebben, waarom dit overdreven enthousiasme voor de nieuwe leer en haar toepassing ongegrond was, maar ik hoop tevens te hebben duidelijk gemaakt, dat wij aan den anderen kant de werkelijke waarde moeten erkennen van de methode van het opsoninonderzoek voor de diagnose van infectieziekten, waarbij haar rol in sommige gevallen een beslissende kan zijn.

Fig. 1.



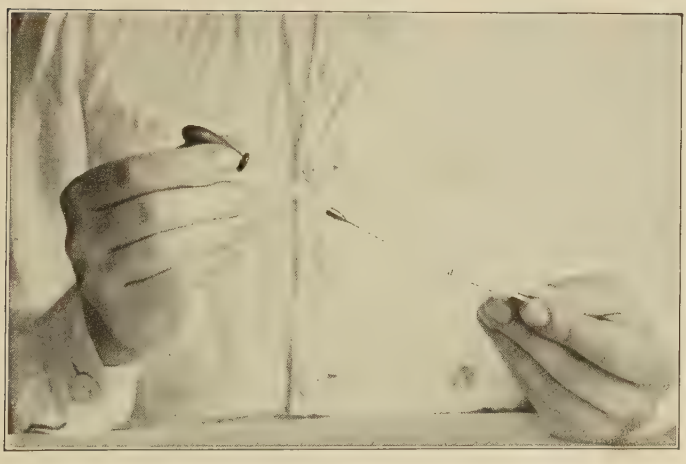
Het afnemen van het bloed.

Fig 2.



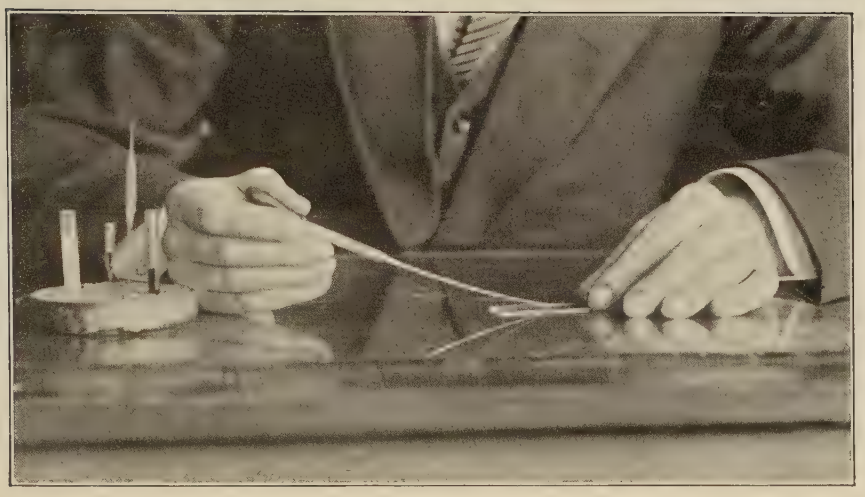
Afneembuisje van Wright.

Fig. 3.



Het gelijkmatig maken van de cream door middel van de pipet.

Fig. 4.



Het behandelen van het phagocytaire mengsel.

Fig. 5.

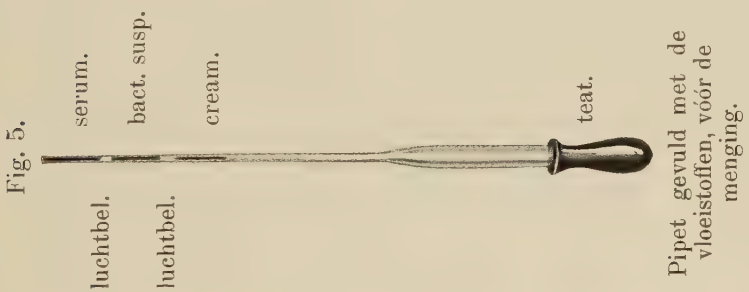


Fig. 6.

Het uitspreiden van het preparaat.

STELLINGEN.

I.

De opsoninenleer van Wright is als immuniteits-verklaring onvolledig, daar zij de eigenschappen der witte bloedlichaampjes, en de virulentie der bacteriën als te verwaarloozen factoren beschouwt.

II.

Het is Neufeld niet gelukt aan te toonen, dat tropinen en opsoninen verschillende lichamen zijn.

III.

Voor de aetiologische diagnose van ontstekingsvochten heeft het opsoninonderzoek weinig waarde.

IV.

De huisdesinfectie is bij den tegenwoordigen stand der diphteritis-prophylaxe doelloos, indien met de bacillendragers geen rekening wordt gehouden.

V.

Kapselvorming bij bacteriën is op te vatten als een virulentie-verschijnsel.

VI.

In de praxis is voor het aantoonen van spirochaeten het z.g. Tuscheverfahren te verkiezen boven de andere snelmethodes (volgens Giemsa — Münch. med. Woch. 1910 p. 2476 — en Lenartowicz-Potrzobowski — Centralbl. f. Bact. Bd. 56 Orig. p. 186 —).

VII.

Het redresseeren van den gibbus bij spondylitis tuberculosa volgens de methode van Calot, is een afkeurenswaardig ingrijpen.

VIII.

De huiddesinfectie met ether sulfuricus (of petroleumether) volgens Dr. Oidtmann is van de gebruikelijke methodes het meest aan te bevelen.

IX.

Voor de bewering, dat salvarsan een neurotoxische nevenwerking zou hebben, zijn geen voldoende bewijzen geleverd.

X.

Het onderzoek van de blinde vlek is van groot belang voor de herkenning van beginnende oogstoornissen, die het gevolg zijn van bijholte-aandoeningen.

XI.

De opvatting, dat het begin der mictie-stoornissen bij retrodeviatio uteri gravidi door compressie wordt teweeggebracht, is onjuist.

XII.

Het zou een groot gevaar zijn, indien het vroegopstaan der kraamvrouwen algemeene toepassing vond.